

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М.В.ЛОМОНОСОВА
ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Черных Иван Николаевич

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

1.4.13 Радиохимия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:
кандидат химических наук, доцент
Николаев Александр Львович

Москва – 2026

Оглавление

Введение	3
1. Обзор литературы	8
1.1. Применение радионуклидов в терапии.....	8
1.2. Брахитерапия	9
1.3. Поверхностная брахитерапия	12
1.4. Радиоэмболизация	15
1.5. Носители радионуклидов на основе гидрогелей	19
1.6. Альгинатные гидрогели. Свойства и применение в медицине.....	23
1.7. Гидроксиапатит и носители радионуклидов на его основе	30
1.8. Выводы из обзора литературы и выбор объектов исследования	33
2. Экспериментальная часть.....	36
2.1. Материалы и реагенты	36
2.2. Синтез образцов	36
2.3. Характеризация образцов.....	40
2.4. Методики спектрофотометрического определения элементов	40
2.5. Кинетика сшивки альгинатных сфер	41
2.6. Кинетика выхода щелочной фосфатазы.....	42
2.7. Кинетика сорбции	42
2.8. Связывание с радионуклидами и изотопный обмен	43
2.9. Стабильность альгинатных сфер в модели биологической жидкости.....	44
2.10. Статистическая обработка результатов.....	44
3. Результаты и их обсуждение	45
3.1. Капельный метод синтеза альгинатных сфер	45
3.2. Синтез гидроксиапатита	48
3.3. Различные подходы к минерализации	52
3.4. Синтез альгинатных сфер кальция, иттрия и железа.....	58
3.5. Набухание и устойчивость сфер в биологических жидкостях.....	73
3.6. Внедрение иттрия-90 в альгинатные сферы	79
3.7. Внедрение фосфора-32 в альгинатные сферы	88
Заключение.....	97
Выводы.....	100
Список литературы	102
Благодарности.....	118

Введение

Актуальность темы исследования

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}Y и ^{32}P основан на их широком применении в указанных видах терапии онкологических заболеваний.

Целью работы является синтез и определение физико-химических особенностей носителей ^{90}Y и ^{32}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}Y и ^{32}P .
2. Характеризация полученных образцов инструментальными методами анализа.
3. Разработка методик включения ^{90}Y и ^{32}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}Y и ^{32}P , а в качестве носителя альгинатные гидрогели, сшитые кальцием, иттрием и железом. Для модификации использовали минеральные частицы гидроксиапатита, полученные осаждением в растворе.

^{90}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}Zr . Бета-излучение ^{90}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}P также является β -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}S . Исторически данный радионуклид был одним из первых, который широко применялся для борьбы с метастазами в костных тканях. В последнее время ^{32}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}Y и ^{32}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 биодеградацию. После проведения исследований *in vivo* минерализованные альгинатные сферы могут быть использованы в качестве носителя ^{32}P при конструировании аппликаторов для внешней брахитерапии и в качестве носителя ^{90}Y для послеоперационной терапии. При условии уменьшения размеров сфер до микрометрового возможно их применение в радиоэмболизации.

Положения, выносимые на защиту:

1. Носители ^{90}Y и ^{32}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}Y перспективно использовать сорбцию и изотопный обмен $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$ в водном растворе.
5. Введение ^{32}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 4х 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.

1. Обзор литературы

1.1. Применение радионуклидов в терапии

В наши дни ионизирующее излучение активно применяется в терапии различных заболеваний. Виды терапии с применением ионизирующего излучения условно можно разделить на дистанционную лучевую терапию, брахитерапию и радионуклидную терапию. При дистанционной лучевой терапии пораженная область на расстоянии облучается внешним источником (гамма-установка с ^{60}Co или линейный ускоритель). Брахитерапия предполагает введение закрытых источников излучения в тот орган человека, где необходимо лечение или вблизи от этого места. При радионуклидной терапии небольшое количество радиоактивного материала, открытого источника излучения, вводится в организм с помощью инъекций, перорально, внутривенным способом или иным методом с целью накопления радионуклида в пораженной ткани.

С начала XX века были исследованы различные радионуклиды для применения в терапии. Одним из наиболее распространенных терапевтических радионуклидов сегодня является ^{131}I в форме $^{131}\text{I-NaI}$ в капсулах или жидкой форме [1]. Он применяется в таком методе лечения как радиоiodтерапия, которая более 70 лет используется для лечения заболеваний щитовидной железы. Радионуклидная терапия применяется и для лечения метастазов в костях. Радионуклиды, применяемые для лечения рака костей, являются альфа- (^{223}Ra) или бета-излучателями (^{89}Sr и ^{153}Sm) и при введении в организм человека избирательно накапливаются в костной ткани. Радионуклидная терапия эффективно уменьшает боль, вызванную метастазами в костях [2].

Активно развивающимся направлением в противораковой терапии является радиоиммунотерапия, направленная на избирательное разрушение раковых клеток без затрагивания здоровых клеток и тканей. В данном методе используются моноклональные антитела, меченные радионуклидом, которые направлены против опухолеассоциированных антигенов. Стоит выделить такие радиофармпрепараты, как Zevalin[®] (^{90}Y -ибритумомаб тиуксетан) и Веххаг[®] (^{131}I -тозитумомаб), которые десятилетиями успешно применялись для лечения различных видов лимфомы [3–5]. В наши дни лидирующие позиции в радионуклидной терапии занимает препарат Pluvicto[®] (^{177}Lu -випивотид тетраксетан) для лечения рака предстательной железы [6,7]. Новым направлением исследований является пептидная рецепторная радионуклидная терапия для лечения неоперабельных нейроэндокринных опухолей, в которой предполагается применять препараты, нацеленные на рецепторы соматостатина. Одним из перспективных радиофармпрепаратов, показавших свою эффективность в ходе клинических испытаний, является ^{90}Y -DOTATOC [8–10], широкое же практическое применение получил препарат Lutathera[®] (^{177}Lu -DOTA-TATE) [11,12]. Однако

несмотря на несомненную эффективность таргетной доставки для терапии онкологических заболеваний ввиду разнообразия видов рака, системной токсичности радиофармпрепаратов [13], сложности их разработки и экономических причин более традиционные методы лечения с пассивной доставкой источников излучения к пораженной области не теряют своей актуальности.

1.2. Брахитерапия

Брахитерапией называют особый вид лучевой терапии, применяемой для лечения рака. Данная терапия основана на имплантации радиоактивных источников непосредственно в опухоль или рядом с ней. Брахитерапия применяется в противораковой терапии с начала прошлого века. Пьер Кюри и Александр Грейам Белл уже через несколько лет после открытия явления радиоактивности обнаружили уменьшение размеров злокачественных опухолей при внедрении источников радиоактивного излучения непосредственно в опухоль [14]. С тех пор применение брахитерапии в медицине постоянно росло, и данный метод вместе с лучевой терапией стал стандартом лечения для опухолей, требующих высокой дозы облучения [15].

Имплантация источников излучения в брахитерапии проводится на основании клинических данных и результатов различных видов визуализации. Зачастую для точного размещения источников необходима консультация специалистов по органам: урологов, гинекологов-хирургов, кардиологов, гастроэнтерологов, пульмонологов, хирургов-онкологов и др. В процессе имплантации источника или сразу после завершения процедуры определяется место расположения источников с помощью рентгеновских снимков или компьютерной томографии [16] и время, которое требуется для достижения необходимой дозы облучения опухоли. Исторически первым радионуклидом, используемым в брахитерапии был ^{226}Ra [17], однако в наши дни используются различные радиоизотопы, такие как ^{125}I , ^{192}Ir , ^{60}Co , ^{103}Pd , ^{137}Cs [15,18,19]. При выборе радионуклида наибольшее предпочтение отдается изотопам обладающим наименьшим периодом полураспада в сочетании с достаточной энергией гамма-излучения, что позволяет не извлекать источники излучения из пациента после окончания терапии [19]. Наиболее часто брахитерапия применяется для лечения пациентов с раком шейки матки, простаты и молочной железы, а также раков головы и шеи [15,19].

Терапевтическая эффективность брахитерапии обеспечивается очень высокой дозой облучения до сотен Гр, которая создается непосредственно в опухоли или вблизи ее. Для брахитерапии характерно быстрое снижение дозы по мере удаления от источника излучения, что снижает облучение окружающих здоровых тканей и является несомненным преимуществом по сравнению с традиционными методами внешнего облучения (рисунок 1). Кроме того, в брахитерапии нет необходимости в поправке на смещение органа в процессе облучения, поскольку источник излучения всегда смещается вместе с опухолью. Таким образом,

брахитерапия является оптимальным способом достижения высоких доз облучения опухоли при одновременном снижении дозы облучения здоровых органов.

При проведении брахитерапии локально создаются достаточно высокие дозы, что может вызывать острые воспалительные реакции. Как и для других инвазивных методов лечения, для брахитерапии существуют риски возникновения инфекций и периоперационной боли. Однако объем облученной области, по сравнению с внешней лучевой терапией, значительно уменьшается, что снижает риск развития общего фиброза нормальных тканей, который приводит к дисфункции органов [15].

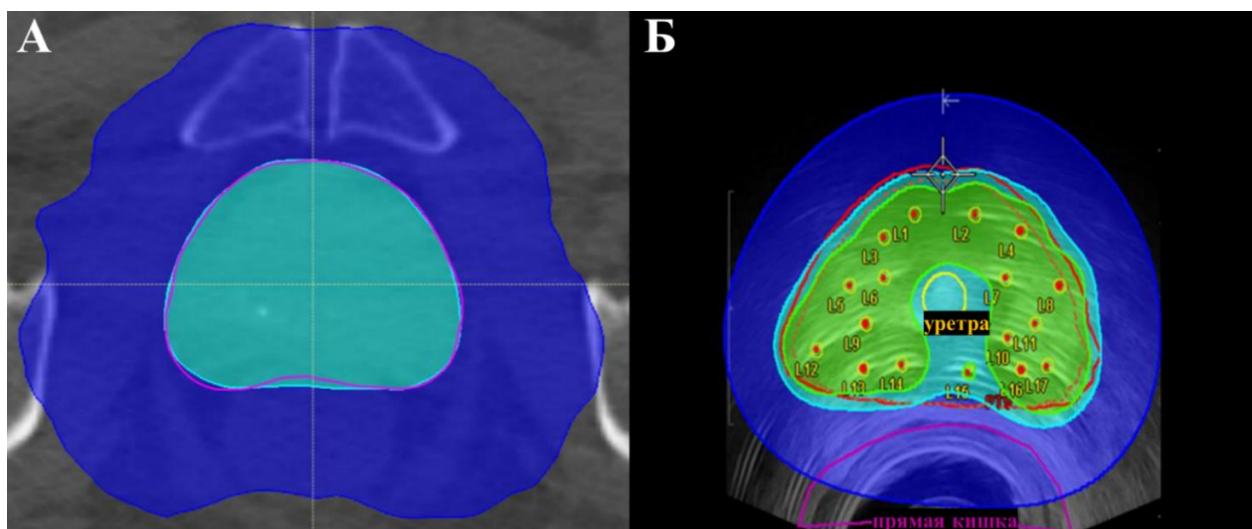


Рисунок 1. Сравнение распределений дозы при внешней лучевой терапии (А) и брахитерапии (Б) на примере рака простаты. Зеленые, голубые и темно-синие линии изодозы соответствуют частям тела, которые получили 18 Гр, 14.25 Гр и 6 Гр соответственно. При внешней лучевой терапии ни одна часть простаты не получила 18 Гр, в то время как объем нормальной ткани, получившей 6 Гр, увеличился в 3.3 раза по сравнению с брахитерапией [15].

Брахитерапия может проводиться в течение различных промежутков времени в зависимости от схемы терапии и используемого радионуклида. При постоянной брахитерапии зерна миллиметрового размера, содержащие радионуклид, имплантируются внутрь опухоли или рядом с ней и не извлекаются после завершения лечения, постепенно теряя свою активность (например, при лечении рака простаты [20,21]). При временной брахитерапии для доставки источника радиоактивного излучения в целевую область используется катетер или аппликатор. При брахитерапии низкой мощности дозы источник обычно помещается в устройство доставки на 12–24 часа, тогда как облучение высокой мощностью дозы может проводиться в течение нескольких минут. После завершения временной брахитерапии происходит удаление источника излучения, при этом процедура может повторяться несколько раз в день или неделю. Катетер или

аппликатор могут оставаться на месте на протяжении всего лечения или вводиться перед каждым сеансом [19].

Капсулы зерен для брахитерапии изготавливают из материалов, обеспечивающих полную закрытость источника излучения, например титана. Стандартный размер капсул составляет 0.8–1 мм в ширину и 4.5–5 мм в длину [22]. Внутри капсулы находится радиоактивный материал в виде металлических нитей и стержней (серебро, палладий или золото) или сфер из ионно-обменной смолы и стекла (рисунок 2).

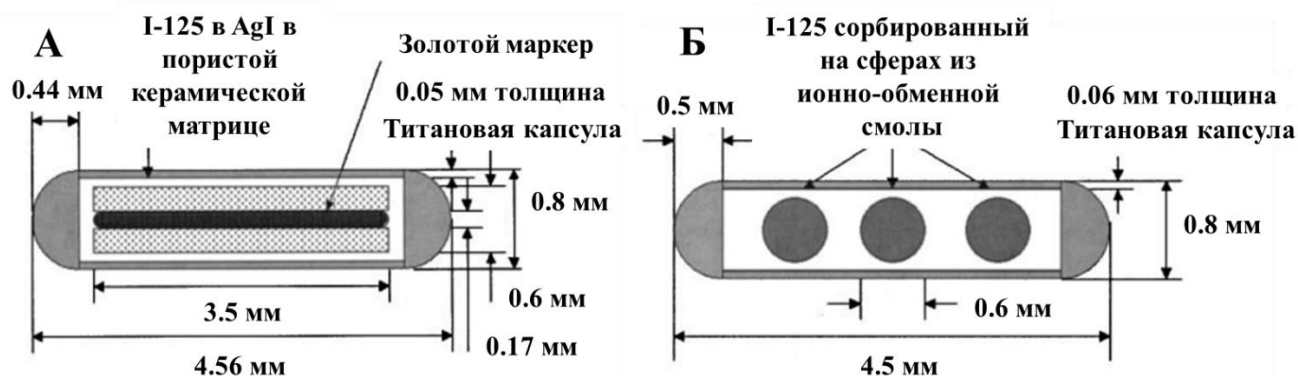


Рисунок 2. Примеры разной конструкции зерен для брахитерапии с ^{125}I . А) модель UroMed Symmetra[®] – AgI, заключенный в керамическую матрицу в титановой капсуле. Б) модель Amersham 6702[®] – сферы из ионно-обменной смолы в титановой капсуле [22].

Новым направлением исследований в брахитерапии является разработка биоразлагаемых зерен, которые со временем могли бы удаляться из организма без хирургического вмешательства и более равномерно распределять дозовую нагрузку по опухоли. Перспективными материалами для капсул таких зерен являются полимолочная кислота (ПЛА), полигликолевая кислота (ПГА) и их сополимер полилактид-ко-гликолид (ПЛГ) за счет своей кинетики биоразложения и биосовместимости. Было предложено использование микрочастиц ^{32}P -фосфата хрома-поли(L-лактида) [23,24]. В процессе разложения частиц образовывались микропоры и высвободившиеся фрагменты ПЛА переносили коллоидные частицы с ^{32}P в окружающие ткани. Исследования на модели опухоли легких кролика продемонстрировали, что через 14 суток после лечения не было утечки ^{32}P из места инъекции в другие органы. По сравнению с контрольной группой, объем опухолей в группах, прошедших лечение, значительно уменьшился [23]. Другая работа продемонстрировала эффективность лечения человеческой глиомы на мышинной модели при инъекции частиц данного состава в опухоль [25].

В последнее время активно проводятся доклинические исследования в области нанобрахитерапии. Основой данного метода является локализованная доставка радиоактивных наночастиц в опухоль аналогично брахитерапии [26]. Замена зерен на наночастицы открывает возможность для использования альфа источников излучения, что потенциально усиливает

терапевтический эффект и адресность лечения. Одна из работ посвящена использованию наночастиц золота, меченных изотопом ^{225}As . В результате внутриопухолевого введения мышам было продемонстрировано замедление роста опухоли несмотря на низкую активность препарата порядка десятков кБк [27]. Подобные системы на основе наночастиц сохраняют достоинства брахитерапии и при этом предполагают более простой метод введения посредством инъекции и позволяют снизить риски послеоперационных осложнений, которые характерны для зерен. Нанометровый размер частиц позволяет им локально диффундировать из места инъекции и однородно распределять дозу по всему объему опухоли [26].

Носители на основе металлоорганических каркасных структур (MOF) сочетают в себе как наноразмерность, так и возможность контролируемого разложения. Металлоорганические каркасы представляют собой упорядоченные пористые материалы из металлических субъединиц и органических линкеров. В таких материалах возможно управление координационными взаимодействиями, что и обеспечивает данным материалам биоразлагаемость. Например на основе металлоорганических координационных полимеров тримезиновой кислоты MIL-100(Fe, Y) и Y-BTC осаждением в растворе были синтезированы меченные ^{90}Y нано-частицы [28]. Данные носители продемонстрировали хорошее удерживание радионуклида в различных средах (выход ^{90}Y от 5% до 10% в сыворотке крови за неделю), а также проникновение в опухолевые сфероиды, сопровождаемое выраженным цитотоксическим эффектом. В опухоли было показано удерживание порядка 80% радиоактивности в течении 3 суток эксперимента, что продемонстрировало безопасность и терапевтический потенциал метода. Брахитерапия с использованием полученных носителей обеспечила ингибирование роста меланомы и увеличила практически вдвое медианную выживаемость у мышей.

1.3. Поверхностная брахитерапия

Поверхностная брахитерапия кожи является эффективной альтернативой хирургическому вмешательству для лечения раков кожи в области головы и шеи, расположенных рядом с такими органами, как нос, глаза, уши или губы, поскольку позволяет сохранить косметический вид и функциональность органов. По сравнению с лучевой терапией поверхностная брахитерапия также выигрывает за счет ограниченной области поражения, которая может быть легко подобрана под конкретный случай с использованием современных технологий 3D-печати [29,30].

Для лечения небольших поражений на плоских поверхностях могут быть использованы коммерчески доступные аппликаторы. Более крупные пораженные области, расположенные на относительно плоской или слегка изогнутой поверхности (руки или ноги), можно лечить с помощью коммерчески доступных лоскутов. В лоскуты на расстоянии 10 мм друг от друга встроены катетеры, по которым может перемещаться радиоактивный источник. Расстояние

катетеров до кожи составляет 5 мм, а стандартная глубина проникновения излучения менее 5 мм [29]. Для изготовления персонализированного аппликатора пациентам сначала проводят компьютерную томографию области с опухолью кожи. Затем полученный набор данных используется для создания виртуальной трехмерной формы со встроенными каналами для источников излучения. На следующем этапе данные передаются на 3D-принтер для печати формы с использованием биосовместимого материала (рисунок 3).

Помимо ^{192}Ir , ^{169}Yb и ^{60}Co , которые активно применяются в поверхностной брахитерапии [31], проводятся исследования и ^{32}P [32–35]. Среди радионуклидов, используемых для изготовления пластырей ^{32}P является привлекательным благодаря длительному периоду полураспада (14.28 суток) и подходящей средней энергии β -частиц (0.69 МэВ). Был разработан пластырь на основе композита нафион/фосфат циркония, в котором иммобилизовали препарат $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$ с помощью выдерживания композита в растворе с последующим промыванием и сушкой [36,37]. Однако этот подход имеет некоторые критические недостатки: трудоемкость, неравномерное распределение радионуклидов из-за случайного размещения капель, большие потери радионуклида ^{32}P (до 50%) в процессе сушки.

Для адаптации аппликатора к форме опухоли авторы другой работы [38] разработали настраиваемый радионуклидный аппликатор на основе гидрогеля из полиакриламида с системой автоматического определения контуров очага поражения с использованием машинного обучения и последующей 3D-печатью аппликатора (рисунок 4). Равномерность распределения радионуклида в гидрогеле достигается включением ^{32}P в процессе синтеза полиакриламидного геля. Эффективность такого подхода была продемонстрирована на моделях *in vitro* и *in vivo*. Исследования на опухолевых моделях мышей продемонстрировали отличную биосовместимость и значительное уменьшение объема опухоли вплоть до полного излечения в течение 14 суток.

^{90}Y за счет своих привлекательных ядерно-физических характеристик (период полураспада 64.04 часа, максимальная энергия бета-частицы 2.27 МэВ, средняя энергия 0.937 МэВ) также является перспективным радиоизотопом для поверхностной брахитерапии. В одной из работ описано создание аппликатора на основе радиогеля из желатина и коммерческих полимерных микросфер содержащих ^{90}Y , которые заливаются в специальные формы, напечатанные на 3D-принтере [39]. Простота данного подхода прежде всего обусловлена отсутствием процедуры иммобилизации радионуклида в гидрогеле. Вместо этого предполагается внедрять в гель коммерчески доступные микросферы, содержащие ^{90}Y , которые активно применяются в радиоэмболизации печени, речь о которой пойдет в следующей главе.

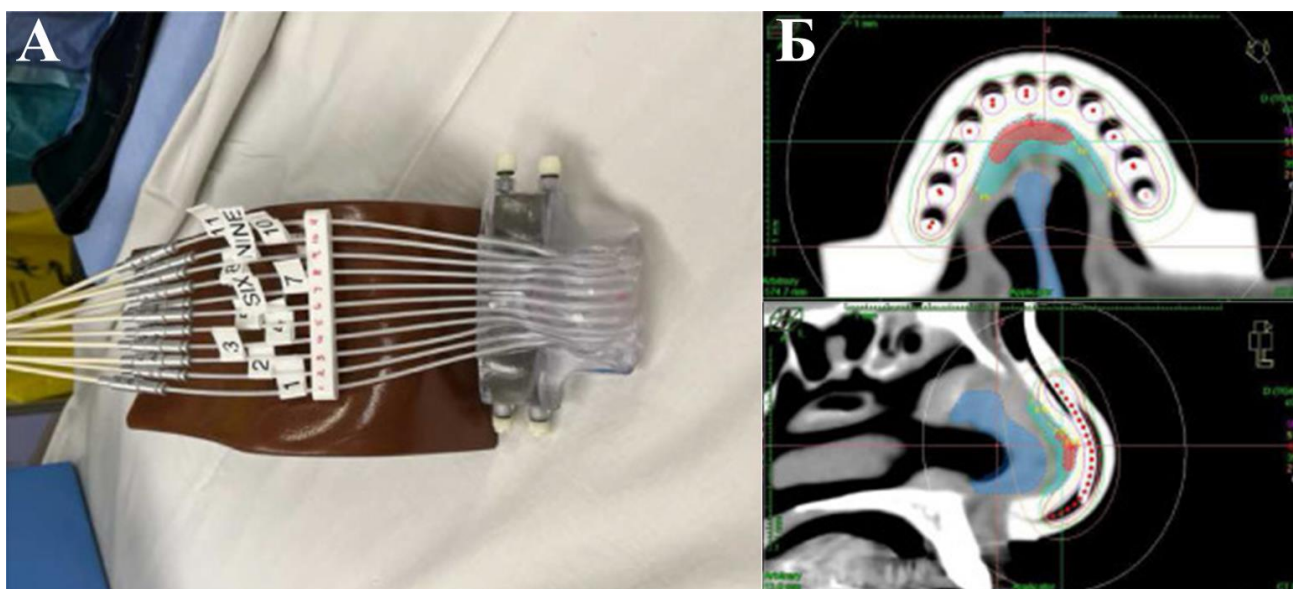


Рисунок 3. Пример лечения карциномы носа с помощью поверхностной брахитерапии. А) Аппликатор, напечатанный на 3D-принтере, с закрепленными катетерами. Б) Компьютерная томография, демонстрирующая плотное прилегание аппликатора к коже с минимальным зазором. Зеленая линия изодозы ограничивает область, получившую 3.5 Гр, а красная линия изодозы соответствует дозе в 4.25 Гр [29].

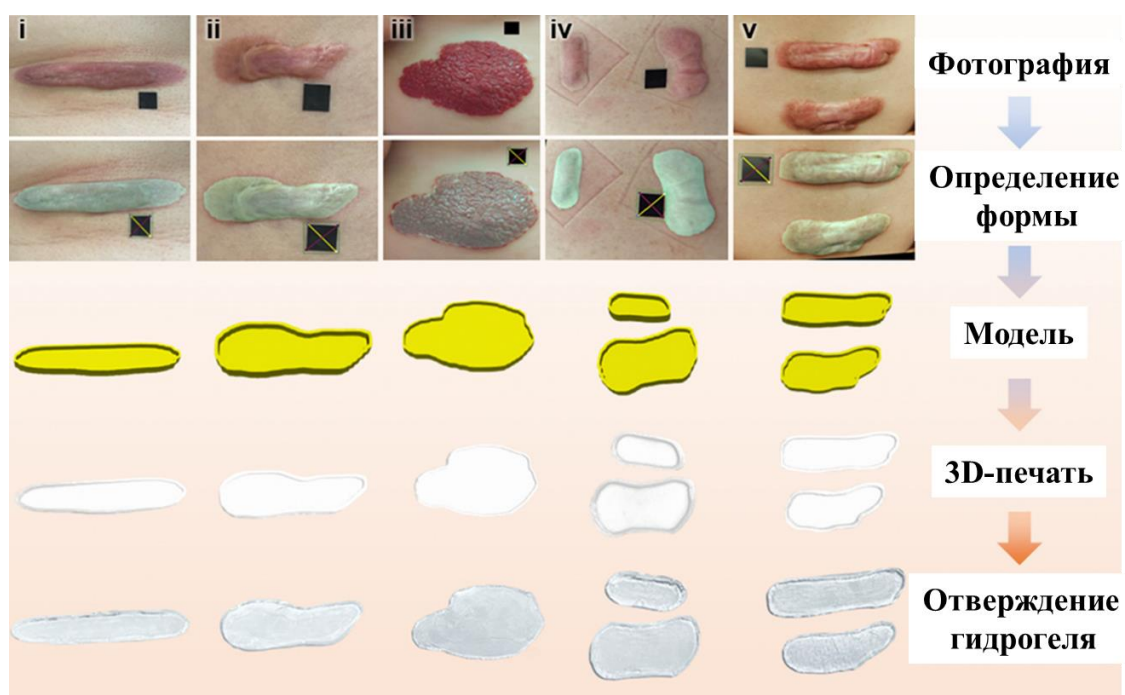


Рисунок 4. Схема производства персонализированного полиакриламидного аппликатора для поверхностной брахитерапии с ^{32}P [38].

1.4. Радиоэмболизация

Радиоэмболизация, также известная как селективная внутренняя лучевая терапия, приобретает все большее распространение как преимущественно паллиативный метод лучевой терапии опухолей печени. Она применяется в тех случаях, когда другие малоинвазивные методы лечения не дают результатов. Данный метод основан на введении микросфер, содержащих бета-излучатели (наиболее часто ^{90}Y), по катетеру в печеночную артерию. Благодаря уникальному печеночному кровотоку, микросферы преимущественно распределяются по опухолевым артериям и перекрывают питание опухоли за счет эмболизации, что в синергии с разрушительным действием бета-излучения оказывает терапевтический эффект [40,41]. Во многом, радиоэмболизация похожа на методы брахитерапии, однако способ введения микросфер через кровоток выделяет данный метод. Использование радиоэмболизации при лечении неоперабельного рака печени заметно улучшает качество жизни пациента по сравнению с традиционными схемами химиотерапии и является экономически целесообразным [42].

На практике в радиоэмболизации наиболее часто используют ^{90}Y . Это чистый бета-излучатель, который распадается до стабильного ^{90}Zr , испуская бета-частицы. В мягких тканях максимальная проникающая способность бета-частиц составляет 11 мм, а средняя порядка 3 мм, поэтому терапевтическая доза концентрируется в месте расположения микросфер [43]. Помимо широко применяемых микросфер с ^{90}Y , проводятся активные исследования с другими радионуклидами, такими как ^{166}Ho [44], ^{177}Lu [45], ^{131}I [46] и ^{32}P [47].

Стоит выделить два коммерчески доступных типа микросфер ^{90}Y . Это стеклянные микросферы TheraSphere[®] (Великобритания) и полимерные SIR-Spheres[®] (Австралия). Оба этих типа сфер являются биосовместимыми, но не биодegradуемыми. Микросферы TheraSphere[®] имеют средний диаметр 20-30 мкм и среднюю активность 2500 Бк на микросферу. В одном флаконе содержится порядка нескольких миллионов сфер. Диаметр SIR-Spheres[®] составляет от 20 до 60 мкм, а средняя активность составляет 50 Бк на микросферу. Обычно каждый флакон с полимерными сферами содержит около 30-50 миллионов микросфер. Стеклянные микросферы TheraSphere[®] показаны для лечения гепатоцеллюлярной карциномы (первичный рак печени) [48], а полимерные микросферы SIR-Spheres[®] используют для лечение метастаз колоректального рака в печени [49].

Оба типа микросфер с ^{90}Y помещаются в предварительно расфасованные флаконы, после чего их активность измеряется непосредственно перед началом лечения. Стандартная активность на флакон может составлять от 3 до 20 ГБк. В радиоэмболизации, микросферы ^{90}Y калибруются, измеряются и вводятся в активностях (ГБк), но планирование лечения происходит относительно дозы в Гр (Дж/кг). При переводе введенной активности в поглощенную дозу предполагают, что активность равномерно распределяется в опухолевой ткани и здоровой печеночной паренхиме.

Тогда 1 ГБк введенной активности на кг массы печени обеспечивает поглощенную дозу 49.4 ± 0.5 Гр, обычно округляемую до 50 Гр [43]. При расчете предписанной активности также часто используют формулу:

$$A = (BSA - 0.2) + \left(\frac{V_t}{V_t + V_l} \right) \quad (1)$$

где A – активность, ГБк; BSA – площадь поверхности тела, м²; V_t – объем опухоли, м³; V_l – объем печени, м³.

Перед процедурой радиоэмболизации проводится клиническое обследование пациентов на предмет наличия противопоказаний, таких как недостаточная функция печени или обширная и не поддающаяся лечению портальная гипертензия. После клинического обследования пациенты проходят дальнейшие этапы, включающие визуализацию с помощью компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ) для оценки проходимости печени, наличия внепеченочных заболеваний, определения опухолевых и неопухолевых объемов. Поскольку радиоэмболизация основана на использовании артерий, предварительное обследование включает ангиографию, а также плоскостную сцинтиграфию и однофотонную эмиссионную компьютерную томографию, совмещенную с КТ (ОФЭКТ/КТ) с введением ^{99m}Tc-макроагрегированного альбумина.

Изображения ОФЭКТ/КТ используются для картирования сосудов и визуализации дополнительных артерий, которые могут привести к внепеченочному распределению микросфер. Распределение ^{99m}Tc-макроагрегированного альбумина также используется для расчета процента шунтирования легких, которое оценивает общее количество микросфер ⁹⁰Y в легких и определяет риск развития радиационного пневмонита, серьезного побочного эффекта, при высоком шансе которого процедура радиоэмболизации отменяется [43].

Из-за вариаций сосудистой печеночной системы может происходить локализация микросфер как в опухолевой, так и в здоровой ткани печени. Ангиография позволяет выявить возможные сосуды для эмболизации (рисунок 5). При выявлении сосудов нежелательных для осаждения микросфер проводят спиральную эмболизацию, перекрывая данные сосуды [50]. Затем проводят процедуру радиоэмболизации, во время которой через кожу устанавливают катетер в бедренную артерию пациента и под рентгеноскопией направляют его в нужную печеночную артерию. Затем подключенный к катетеру флакон с микросферами ⁹⁰Y вводят в организм. Из-за более высокой эмболической тенденции микросферы из смолы последовательно вводятся с физраствором и 5% декстрозой, в то время как стеклянные микросферы вводятся только с физраствором. Непосредственно после лечения пациенту проводится повторная

визуализация с помощью ОФЭКТ/КТ или ПЭТ/КТ для контроля распределения микросфер и оценки дозы облучения [43].

Стеклянные микросферы изготавливаются путем расплавления оксида алюминия, диоксида кремния и оксида иттрия (или гольмия) при температуре 1500-1600 °С. Затем происходит активация микросфер с помощью нейтронной бомбардировки в ядерном реакторе для получения необходимого бета-излучающего радионуклида (^{90}Y или ^{166}Ho) по (n, γ) реакции [41,51]. Стекло в качестве носителя радионуклида имеет такие преимущества, как нетоксичность, радиационную устойчивость и низкое выщелачивание. При этом стеклянные микросферы TheraSphere[®] также имеют в 50 раз более высокую среднюю удельную активность, по сравнению с полимерными микросферами SIR-Spheres[®], и более узкое распределение по размерам [52]. Стеклянные сферы в три с половиной раза тяжелее крови (стекло – 3.7 г/см³, кровь – 1.05 г/см³), поэтому из-за более высокого удельного веса стеклянные микросферы должны вводиться с большим давлением, что может привести к последующему неоптимальному распределению в опухоли печени. Если микросферы вводятся со скоростью, превышающей скорость собственной артерии, то они будут отклоняться от нормального течения в сосудах опухоли с низким сопротивлением в сосуды с более высоким сопротивлением, не снабжающие опухоль [41,53].

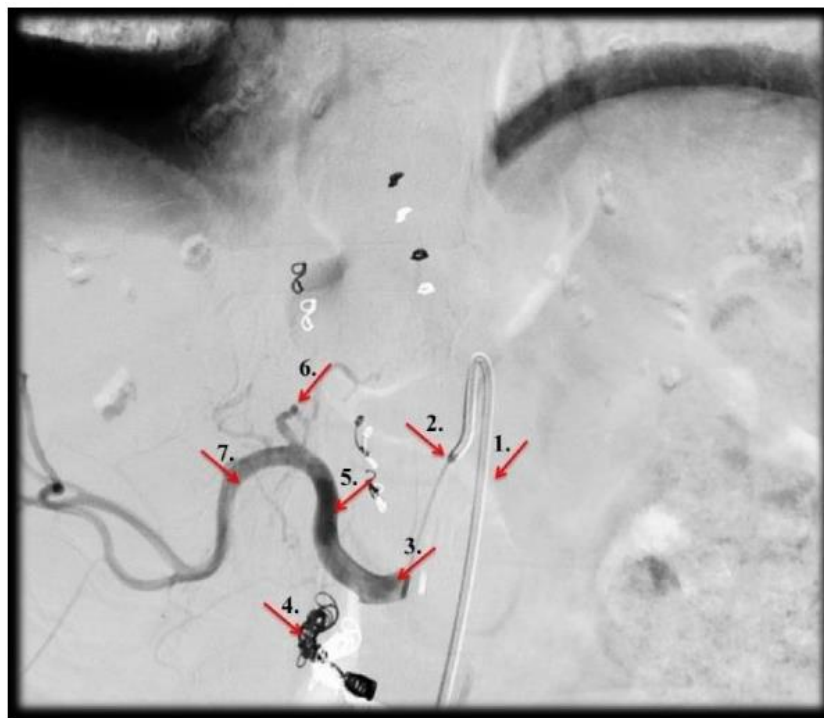


Рисунок 5. Цифровая ангиография пациента, которому планируется радиоэмболизация правой доли печени. Обозначены различные участки печеночных сосудов: 1 – катетер, 2 – микрокатетер, который протягивается к 3 – общей печеночной артерии, 4 – гастродуоденальная артерия, которая эмболизуется спиралью, 5 – собственная печеночная артерия, 6 – левая печеночная артерия, 7 – правая печеночная артерия [43].

Для получения полимерных микросфер SIR-Spheres[®] используют катионообменные смолы на основе полистирола. Введение в сферы радиоактивности происходит за счет обмена катионов натрия в молекуле на катион радионуклида ($^{90}\text{Y}^{3+}$). Альтернативные материалы основаны на акриловом полимере, карбоксильные группы которого используются для связывания радионуклида. Микросферы из смолы являются биосовместимыми, но они не биоразлагаемы. Они обладают низкой удельной активностью и требуют введения больших количеств частиц [53]. Увеличение количества частиц может привести к прекращению тока крови в инъецируемом кровеносном сосуде. Тогда из-за обратного тока может произойти нецелевая доставка микросфер. Также из-за сильного эмболизирующего эффекта микросферы из смолы иногда не считаются подходящими для пациентов с затрудненным венозным кровотоком. Микросферы из смолы SIR-Spheres[®] характеризуются более низким удерживанием радионуклида по сравнению со стеклянными сферами. Даже в воде через 20 мин из микросфер высвобождается до 0.4% ^{90}Y [41].

Ведется активная разработка новых материалов носителей для радиоэмболизации печени на основе биополимерных материалов. Биополимеры имеют много преимуществ перед применяемыми в радиоэмболизации стеклами и катионообменными смолами при изготовлении эмболических микросфер, так как они могут быть биоразлагаемыми и иметь плотность, близкую к плазме крови. Биodeградируемые микросферы имеют преимущество перед небиodeградируемыми, поскольку они могут разлагаться в организме и со временем выводиться без хирургического вмешательства. Стоит отметить, что биополимерные сферы не переносят интенсивный поток тепловых нейтронов, который используется для активации стеклянных сфер [41]. Эта проблема может быть решена путем изменения параметров облучения и либо использования альтернативных методов ионного обмена или сорбции.

В число перспективных полимеров входит полимолочная кислота, однако сферы на ее основе, несмотря на постепенное разложение закупоривают сосуд в течение длительного времени (порядка 9 месяцев) [54]. Более приемлемой биоразлагаемостью обладают хитозановые микросферы. Композитные микросферы на основе хитозана и оксида магния меченые ^{177}Lu демонстрируют хорошую биосовместимость, биodeградируемость, радиохимическую стабильность *in vitro* и высокую противоопухолевую активность. Данные микросферы также позволили проводить мониторинг с помощью ОФЭКТ/КТ в реальном времени до 8 недель, поскольку при распаде ^{177}Lu испускаются как бета-частицы, так и гамма-кванты [45]. Другими интересными с точки зрения биоразлагаемости носителями для радиоэмболизации являются альбуминовые микросферы. Так были разработаны носители на основе альбумина и хелатора ДТРА, меченые ^{90}Y , которые показали значительную устойчивость к десорбции радионуклида *in*

vitro и *in vivo* (через 5 суток из легких крысы в другие органы перешло около 10% активности) [55].

1.5. Носители радионуклидов на основе гидрогелей

Одним из новых направлений борьбы с неоперабельными онкологическими заболеваниями является использование систем локальной доставки лекарственных средств на основе гидрогелей. Гидрогелевые системы демонстрируют хорошую биосовместимость, возможность инкапсулирования больших количеств лекарственного средства и его пролонгированное высвобождение. В отличие от традиционных лекарственных форм, гидрогели могут вводиться интраоперационно и высвобождать инкапсулированные терапевтические агенты (препараты для химиотерапии, радионуклиды, радиосенсибилизаторы и т.д.) непосредственно в неоперабельных участках опухоли [56].

Гидрогель представляет собой проницаемую трехмерную сетчатую структуру, состоящую из гидрофильных полимеров и способную удерживать большое количество воды, что по ряду физических свойств делает его подобным живым тканям. Гидрогели образуются в результате процесса сшивания, который может быть обусловлен радикальной полимеризацией, химической реакцией с функциональными группами, электростатическими взаимодействиями или кристаллизацией [57]. Одним из ключевых свойств гидрогелей является возможность их набухания за счет гидрофильности полимера. Гидрофильность сетки обусловлена наличием таких групп, как $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{CONH}-$ и $-\text{SO}_3\text{H}$, капиллярным эффектом и осмотическим давлением.

При отсутствии сшивки гидрофильные линейные полимерные цепи растворяются в воде, благодаря термодинамической совместимости полимерной цепи и воды. Однако при наличии точек сшивания растворимость и набухание ($\Delta G_{\text{смеш}}$) компенсируются упругим противодействием сетки ($\Delta G_{\text{эласт}}$) согласно уравнению Флори-Ренера [58,59]. Набухание достигает равновесия при уравнивании этих сил. Таким образом, химические и физические точки сшивания поддерживают 3D-структуру гидрогелей в набухом состоянии. Наличие ионных фрагментов в гидрогелях значительно усложняет теоретическое рассмотрение набухания, поскольку появляется дополнительная компонента ($\Delta G_{\text{ион}}$), обусловленная ионной природой полимерной сетки. В итоге уравнение, описывающие равновесие в гидрогеле в терминах свободной энергии Гиббса, может быть записано в виде:

$$\Delta G_{\text{сумм}} = \Delta G_{\text{эласт}} + \Delta G_{\text{смеш}} + \Delta G_{\text{ион}} \quad (2)$$

где $\Delta G_{\text{смеш}}$ описывает самопроизвольное смешивание молекул жидкости с полимерными цепями; $\Delta G_{\text{эласт}}$ обусловлено упругими сокращающимися силами, возникающими внутри геля; $\Delta G_{\text{ион}}$ учитывает ионную природу полимерной сетки.

Соотношение сшивающего агента и мономера (степень сшивки) является одним из наиболее важных факторов, влияющих на набухание гидрогелей. Гидрогели с высокой степенью сшивки имеют более плотную, компактную структуру и набухают в меньшей степени, поскольку сшивание препятствует подвижности полимерной цепи. Химическая структура полимера также может влиять на степень набухания гидрогелей. Так, гидрогели, содержащие гидрофильные группы, набухают сильнее по сравнению с гидрогелями, содержащими гидрофобные группы. На процесс набухания также могут влиять различные факторы среды: температура, pH, ионная сила и др. Когда диффузия воды в гидрогель происходит медленнее, чем релаксация полимерных цепей, кинетика набухания является диффузионно-контролируемой (фииковское набухание), в обратном случае она релаксационно-контролируемая (нефииковское набухание) [60].

Гидрогели могут вводиться в пораженные ткани или полости, образовавшиеся после хирургического удаления опухолей, с помощью инъекций или распыления (рисунок 6), что позволяет преодолевать различные биологические барьеры, например гематоэнцефалический барьер, и осуществлять пассивную доставку различных препаратов [61]. При этом терапевтические агенты, инкапсулированные в гидрогели, получают защиту от воздействия агрессивных факторов внутри человеческого организма до достижения ими раковых клеток. На основе гидрогелей также возможно разработать системы с контролируемым высвобождением, реагирующие на внешние воздействия [62]. Высвобождение терапевтических агентов и лекарственных средств может быть диффузионно-контролируемым, химически-контролируемым и контролируемым за счет набухания [58].

Диффузионно-контролируемые системы доставки основаны на диффузии вещества через полимерную мембрану, при этом скорость высвобождения препарата меняется со временем [63]. Высвобождение лекарственного средства зависит от геометрии системы (сферическая, цилиндрическая, плоская и тд.), а также может контролироваться толщиной мембраны, разностью концентраций лекарственного средства по обе стороны мембраны, термодинамическими характеристиками системы (изменение коэффициента распределения) и структурой полимера (изменение коэффициента диффузии).

Химически-контролируемая доставка подразумевает высвобождение препарата в следствие эрозии (деградации или растворения полимера) либо при разрушении лабильной связи между полимером и лекарственным средством [63]. В таких системах скорость диффузии препарата значительно ниже скоростей указанных процессов. Для гидрофильных полимеров

высвобождение препарата происходит по всему объему геля вследствие гомогенной эрозии, в то время как для гидрофобных полимеров характерна гетерогенная эрозия с высвобождением препарата только на поверхности геля, что обеспечивает большую длительность высвобождения.

В случае гидрофильной матрицы гидрогеля высвобождение лекарственного средства может зависеть от потока молекул растворителя во время набухания полимера. Такие системы называют контролируруемыми за счет набухания. В подобных носителях препараты изначально растворены или диспергированы в стеклообразных полимерах. При контакте с биологическими жидкостями полимерная матрица начинает набухать, и система разделяется на две фазы: внутреннюю стеклообразную фазу и набухшую поверхностную фазу в высокоэластичном состоянии, из которой могут диффундировать включенные в нее лекарственные средства [58]. Таким образом, происходит контроль высвобождения препарата за счет скорости движения границы раздела между двумя фазами от поверхности носителя к его центру.

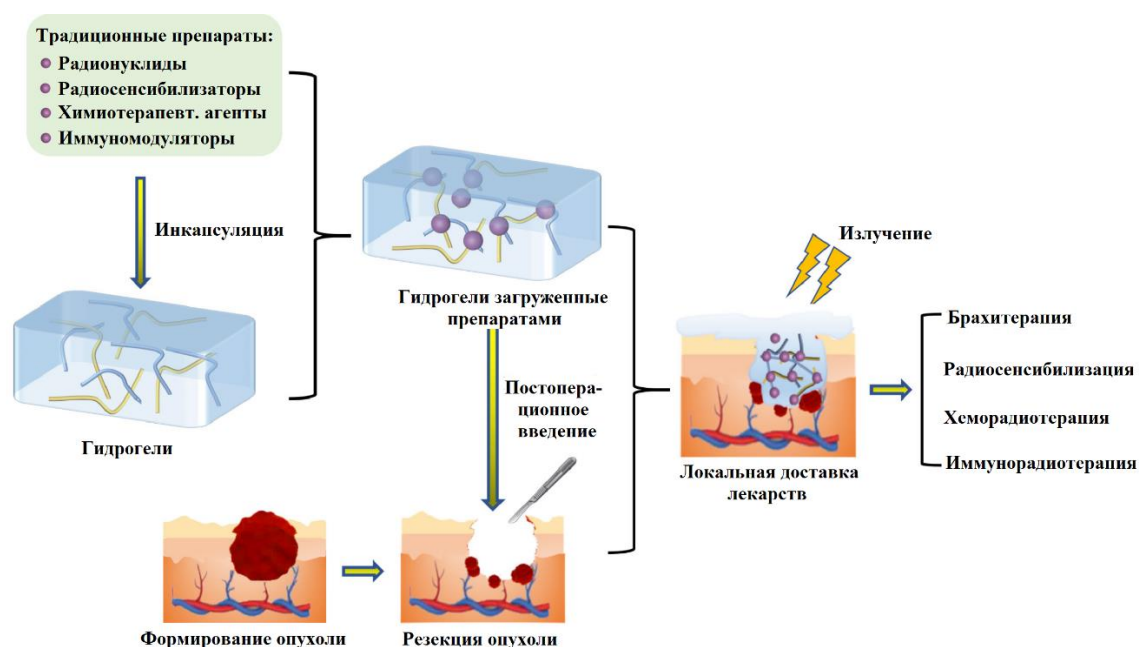


Рисунок 6. Схема применения систем локальной доставки лекарственных препаратов на основе гидрогелей для послеоперационной терапии [56].

Среди гидрогелевых систем, предназначенных для доставки радионуклидов, стоит выделить комбинацию для фототермической брахитерапии на основе меченных изотопом ^{131}I наночастиц сульфида меди ($\text{CuS}/^{131}\text{I}$), двойных акрилатов полиэтиленгликоля (ПЭГДА) и термического инициатора светоиндуцированного гелеобразования [64]. После локальной инъекции наночастицы $\text{CuS}/^{131}\text{I}$ под воздействием ближнего инфракрасного лазера (915 нм) выделяют тепло, инициируя полимеризацию ПЭГДА путем активации термоинициатора. За счет гелеобразования внутри опухоли происходит фиксация меченых наночастиц на длительный срок (порядка 192 часов согласно экспериментам на мышах). Более того, было показано, что гипертермия, вызванная фототермическими гидрогелями, реагирующими на ближнее

инфракрасное излучение, может усилить кровообращение и уменьшить гипоксию опухолевой среды. В результате может быть повышена радиочувствительность опухолевых клеток.

В другой работе принципы фототермической брахитерапии исследователи использовали для создания гидрогелевой системы на основе двойной сетки ПЭГДА и альгината, содержащей меченные ^{125}I золотые наностержни, модифицированные RGDY-пептидом [65]. Двойной гидрогель формировался путем инъекции растворов-прекурсоров в полость удаленных раковых молочных желез мышей, где происходило быстрое гелеобразование, основанное на температурно-индуцированной полимеризации ПЭГДА и сшивании альгината и эндогенного Ca^{2+} . Плотная полимерная сетка гидрогеля позволила прочно зафиксировать меченные золотые наностержни в матрицы. В работе была продемонстрирована высокая эффективность постоперационного лечения и борьбы с повторным ростом опухоли при использовании данной системы (рисунок 7). Помимо гипертермии была обнаружена антибактериальная активность композита, которая предотвращает потенциальную инфекцию ран, и продемонстрирована возможность отслеживания поведения композита с помощью ОФЭКТ благодаря метке ^{125}I . Таким образом, фототермическая брахитерапия может в перспективе решить проблемы рецидива опухолей и инфицирования ран после хирургического вмешательства.



Рисунок 7. Объемы опухолей у различных групп мышей (модель рака груди), выросших в результате рецидива, через 28 суток послеоперационного лечения. ^{125}I -Au – меченные ^{125}I золотые наностержни, модифицированные RGDY-пептидом. ПЭГДА/альгинат – гидрогель на основе двойной сетки диакрилата полиэтиленгликоля и альгината. ИК – ближнее инфракрасное облучение [65].

Одним из перспективных гидрогелевых носителей радионуклидов является карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ). КМЦ – это анионный линейный полисахарид, водорастворимое производное целлюлозы, которое содержит анионные карбоксиметильные группы в качестве заместителей атомов водорода некоторых гидроксильных групп исходной структуры целлюлозы [66]. Перед растворением в воде происходит набухание КМЦ с образованием микрогелей в виде коллоидного раствора, а сшивание двух и трехвалентными металлами позволяет стабилизировать гидрогель. Микрогели не могут свободно проходить через

капиллярную стенку в ткани подобно небольшим молекулам, но при этом они накапливаются в опухолях, что используется для доставки лекарств и средств визуализации [67].

Возможность связывания КМЦ с металлами позволяет создавать на основе данного гидрогеля носители радионуклидов, что было продемонстрировано в результате синтеза соединений полисахарида и катионов металлов, перспективных для ядерной медицины: Zn [68], Cu [69] и Bi [70]. Была обнаружена высокая цитотоксичность комплексов КМЦ с медью и противораковым агентом (аминопиримидин), по отношению к лейкемическим клеткам, которая заметно превысила цитотоксичность для нормальных лимфоцитов, что продемонстрировало перспективу использования подобных систем в терапии онкологических заболеваний. Исследование комплексов КМЦ-Bi в свою очередь показало возможность тонкой настройки цитотоксичности по отношению и к здоровым, и к опухолевым клеткам с помощью изменения состава микрогелей. При введении меченых комплексов КМЦ-²⁰⁷Bi в кровь было обнаружено заметное изменение биораспределения радионуклида в организме мыши по сравнению с хлоридом висмута. Из большинства органов за исключением легких и селезенки ²⁰⁷Bi выводился в течении 24 часов.

1.6. Альгинатные гидрогели. Свойства и применение в медицине

Альгинаты это соли альгиновой кислоты, природные полисахариды, получаемые в результате экстракции из бурых морских водорослей, а также бактериального синтеза [71]. Альгинаты состоят из остатков 1,4-β-D-маннуроновой кислоты (M) и 1,4-α-L-гулууроновой кислоты (G), которые связаны в гомогенные (-G-G-G-G-, -M-M-M-M) или гетерогенные (-M-G-M-G-) блоки посредством гликозидных связей (рисунок 8 А). Среднечисловая молекулярная масса коммерческих альгинатов колеблется в пределах 32 000 – 400 000 г/моль.

Соотношение M- и G-звеньев определяют такие характеристики альгинатных гидрогелей, как вязкость растворов, способность к гелеобразованию, а также механические свойства получаемых материалов. Преобладание G-блоков в альгинате способствует улучшению прочностных свойств гелей, а высокое содержание M-блоков обеспечивает повышенную эластичность [72,73]. Особенности свойств M- и G-блоков альгината обеспечиваются различиями 1,4-β-D маннуроната и 1,4-α-L-гулуруоната в эпимерной конфигурации у атома C-5, различной конформацией кольца и геометрией гликозидных связей [74,75].

Звенья M принимают экваториальную конформацию кресла ⁴C₁, когда атом C-4 выше плоскости кольца, а атом C-1 ниже [76]. Звенья G принимают аксиальную конформацию кресла ¹C₄, когда атом C-1 выше плоскости кольца, а C-4 ниже (рисунок 8 Б). В результате маннуронаты образуют линейные и гибкие блоки, а блоки гулуруонатов связываются в изогнутую структуру, которая обеспечивает кооперативное связывание с многозарядными катионами с образованием

жестких гелевых структур, что подробнее будет обсуждаться ниже. Соотношение G- и M- блоков и молекулярная масса альгината во многом определяется местом, временем сбора и видом водорослей [77]. Наибольшее содержание альгиновой кислоты обнаружено в бурых водорослях семейства ламинариевые.

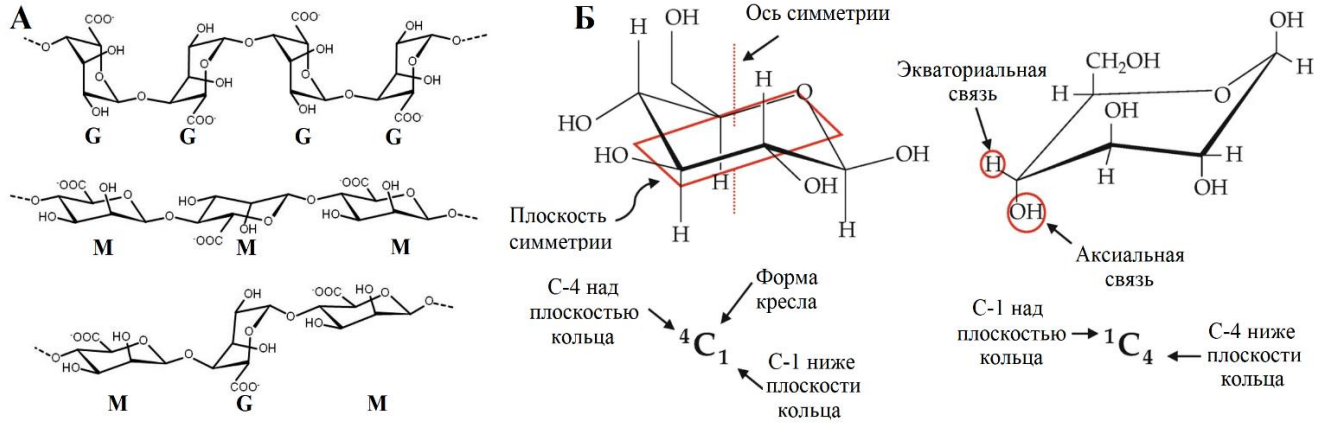


Рисунок 8. А) Структура (-G-G-G-G-), (-M-M-M-M) и (-M-G-M-G-) блоков альгината [73]. Б) 4C_1 и 1C_4 конформации кресла на примере β -D-глюкопиранозы [76].

Альгинаты уже нашли широкое применение в пищевой и косметической промышленности, а также в медицине благодаря своей гелеобразующей способности, хорошей впитываемости воды и нетоксичности для организма человека [78,79]. Биополимерные материалы на основе альгинатных гидрогелей широко изучаются в качестве материалов для доставки лекарственных средств [80–82]. Это обусловлено простотой создания сферических капсул (сфер) на основе этих гелей и возможностью включения различных биоактивных веществ, которые могут постепенно диффундировать из гидрогеля. Этим процессом можно управлять, контролируя pH, температуру или используя окислительно-восстановительные реакции [83,84].

Одним из важнейших свойств альгинатов является гелеобразование в присутствии многозарядных катионов. Оно происходит при взаимодействии отрицательно заряженных карбоксильных фрагментов альгинатных цепей с положительно заряженными катионами металлов или с катионными полимерами с образованием полиэлектролитных комплексов. Если число связей между молекулами альгината и ионами металла незначительно, то образуется вязкий раствор, если число связей возрастает, то начинается процесс гелеобразования [85].

Способность к комплексообразованию определяется валентностью и координационным числом катиона. Единственным однозарядным катионом способным запустить процесс гелеобразования альгината является H_3O^+ , что происходит, когда pH растворов альгината становится ниже pKa остатков уруновых кислот (pH < 3.65). В таком случае карбоксильные группы альгината протонируются. С понижением pH усиливается межмолекулярное связывание,

и образуются водородные связи между гидроксильными и карбоксильными группами соседних G-блоков, что приводит к образованию альгинатного геля H^+ -типа. Гель H^+ -типа мягкий, неоднородный и растворимый в щелочном растворе [86].

Сформированные в ходе гелеобразования альгината структуры с катионами многовалентных металлов в литературе описывают моделью «яичной коробки». Модель изначально была создана для описания строения гидрогеля альгината кальция, поскольку Ca^{2+} является наиболее популярным сшивающим агентом альгината, однако действие этой модели распространяют и на альгинаты других двухзарядных катионов. Двухзарядные катионы согласно модели «яичной коробки» главным образом связываются с G-блоками. На первом этапе гелеобразования альгината кальция происходит образование монокомплексов при взаимодействии Ca^{2+} с гулуранатом. Затем посредством спаривания монокомплексов образуются димеры типа «яичная коробка», которые затем связываются с соседними димерами с образованием мультикомплексов (рисунок 9). На последнем этапе помимо координации ионов Ca^{2+} происходит образование водородных связей между гидроксильными и карбоксильными группами парных G-блоков. В результате образуется трехмерная структура с ромбовидными гидрофильными полостями, в которых располагаются катионы кальция, координированные шестью атомами кислорода карбоксильных групп и 1-3 атомами воды [86,87].

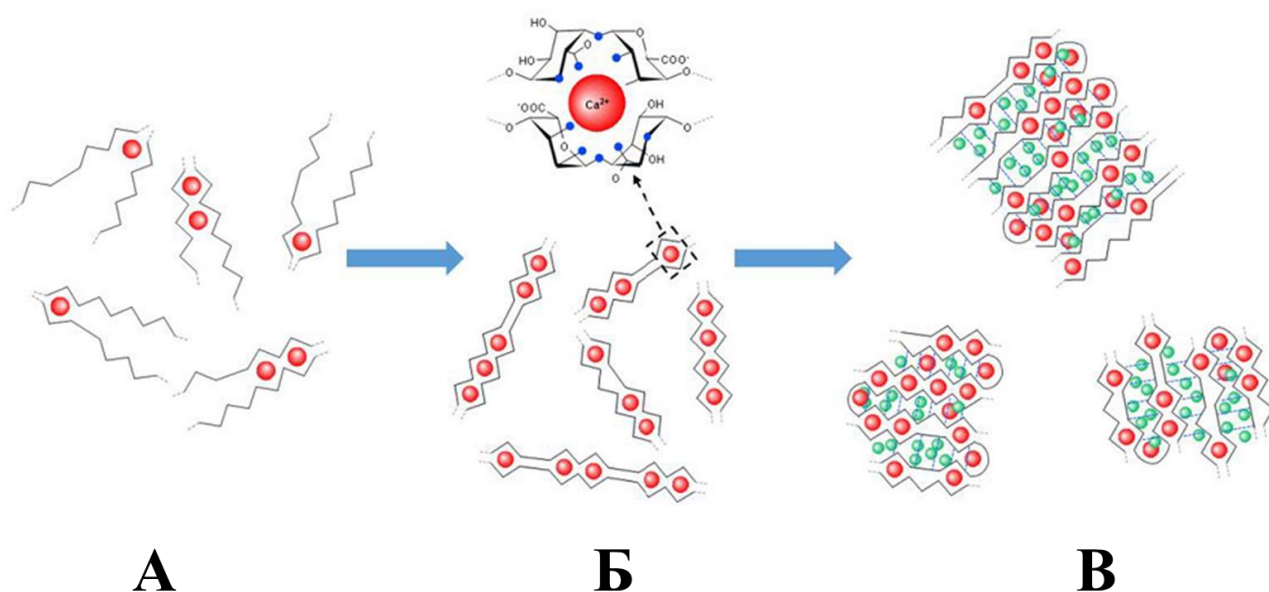


Рисунок 9. Схема механизма гелеобразования для альгината кальция. А) Образование монокомплексов и димеров. Б) Димеры типа «яичная коробка». В) Боковая ассоциация с образованием мультикомплексов. Красные и зеленые круги представляют катионы Ca^{2+} и Na^+ соответственно [86].

Кинетика гелеобразования и свойства полученных гидрогелей существенно зависят от свойств иона, таких как валентность и радиус. Катионы, используемые в качестве сшивающих

агентов, могут быть распределены в соответствии с их сродством к альгинату следующим образом: $Mn^{2+} < Zn^{2+}, Ni^{2+}, Co^{2+} < Fe^{2+} < Ca^{2+} < Sr^{2+} < Ba^{2+} < Cd^{2+} < Cu^{2+} < Pb^{2+}$. Взаимодействие альгината с трехвалентными ионами (Fe^{3+} или Al^{3+}) более сильное, чем с двухвалентными. Также было обнаружено, что стабильность геля снижается в следующем ряду: $Ba^{2+} > Cd^{2+} > Cu^{2+} > Sr^{2+} > Ni^{2+} > Ca^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Mg^{2+}$ [86].

Некоторые катионы, имеющие большее сродство к альгинату по сравнению с кальцием, также могут связываться с М-блоками (но не MG), чтобы было продемонстрировано для Ba^{2+} [88]. За счет этого гидрогели альгината бария демонстрируют более прочную структуру и более высокую стабильность, чем гели альгината кальция. Катион Cu^{2+} имеет на порядок большее сродство к альгинатным цепям, что также выражается в отсутствии избирательности связывания по отношению к G, M и даже MG-блокам. Механизм гелеобразования альгината меди значительно отличается от механизма гелеобразования альгината кальция. В процессе сшивания альгината Cu^{2+} связывается только с четырьмя атомами кислорода и образуется более упорядоченная структура сшивки по сравнению с Ca^{2+} [89]. На границе контакта сшивающего раствора с альгинатом образуется очень плотный слой геля, препятствующий дальнейшей диффузии Cu^{2+} внутрь, что приводит к образованию макроструктуры с мягким ядром и более плотной оболочкой.

Механизм гелеобразования для трехвалентных катионов не до конца ясен. Известно, что альгинатные гели, образующиеся в присутствии Al^{3+} , гораздо более стабильны, чем гели, образующиеся с Ca^{2+} и Ba^{2+} , что объясняется образованием трехмерной структуры при связывании с Al^{3+} . Однако использование альгината алюминия ограничено из-за его потенциальной токсичности [86]. Более интересным сшивающим агентом для альгината являются катионы Fe^{3+} . Это объясняется особой химией катионов железа и различных механизмов сшивки трехвалентных и двухвалентных катионов с карбоксильными группами. В то время как гелеобразование альгината с «мягким» катионом Fe^{2+} затруднено, «жесткий» катион Fe^{3+} взаимодействует с альгинатом сильнее других двухвалентных и трехвалентных катионов [90].

Исследование механизма гелеобразования альгината с катионами Fe^{3+} затруднено, поскольку ионы трехвалентного железа образуют нерастворимые гидроксиды в воде при нейтрально-основных значениях pH. Существуют две модели, первая из которых предполагает образование структуры похожей на «яичную коробку» со связыванием G и MG-блоков и координацией 6 атомов кислорода. Коллоидная модель предполагает, что ионы Fe^{3+} образуют частицы оксигидроксида $FeOОН$, стабилизированные полисахаридными цепями в устойчивую коллоидную систему, за счет чего происходит их удерживание в гидрогелевой матрице [91]. Так

же, как и в случае Cu^{2+} при сшивании альгината катионами Fe^{3+} образуется неоднородный гель с плотной оболочкой на границе раздела фаз.

Гидрогель альгината железа является перспективным материалом для активно исследуемых в наши дни умных систем доставки лекарств, которые способны обеспечить контролируемое высвобождение лекарственных средств. Гидрогели альгината железа являются многообещающими материалами, поскольку реагирует на такие факторы, как свет, pH среды, электрический ток (электро-химическое восстановление), присутствие в системе восстановителя (H_2O_2 , аскорбиновая кислота и тд.), что и дает возможность осуществлять управляемую доставку лекарств [92–94]. Управление свойствами гидрогеля альгината железа основана на окислительно-восстановительном превращении Fe^{3+} в катионы Fe^{2+} , которые не способны удержать альгинат в состоянии геля. В результате происходит растворение альгината железа с высвобождением захваченных биомолекул или лекарственных препаратов. Наиболее удобным способом управления свойствами альгината железа является фотохимическое восстановление Fe^{3+} [95].

Второй после гелеобразования важной характеристикой альгинатов является их высокая сорбционная способность по отношению к двух- или трехвалентным металлам, обусловленная координацией карбоксильных групп альгинатов [96,97]. Множество работ в литературе посвящено сорбции катионов металлов на альгинатных сферах для очистки воды [98–100]. Данное свойство альгинатов также дает возможность включать радионуклиды в гидрогелевую матрицу полимера [41,101–103] путем сорбции из раствора, что упрощает процедуру мечения по сравнению с методом нейтронной активации. Сорбционные свойства альгинатных гидрогелей обусловлены различными процессами, представленными на рисунке 10. Стоит выделить ионный обмен со сшивающими катионами, электростатическое взаимодействие с карбоксильными группами альгината, физическую адсорбцию в порах микросфер и осаждение на минеральных частицах модификаторов [103]. Максимальная сорбция альгинатных гидрогелей варьируется в широких пределах и, например, для альгината кальция лежит в диапазоне от 100 до 300 мг/г и зависит от природы сорбируемого металла, pH среды, химической модификации материала и различных добавок.

Важным свойством альгинатов является возможность их разложения. Существуют различные механизмы разложения альгинатов: кислотное (pH < 5) и щелочное (pH > 10) разложение, а также ферментативное разложение за счет ферментов класса альгинат-лиаз [104]. Стоит отметить, что в человеческом организме отсутствуют ферменты данного класса, поэтому основная деградация материалов на основе сшитого альгината в человеческом организме заключается в потере сшивающих ионов при ионном обмене с последующим высвобождением альгинатных нитей различной молекулярной массы, и их постепенным выведением из организма [105]. Полимеры альгината большой молекулярной массы могут накапливаться в организме, чего

можно избежать, используя альгинаты с массой менее 40-50 кДа, которая обеспечивает возможность выведения с помощью почек [106].

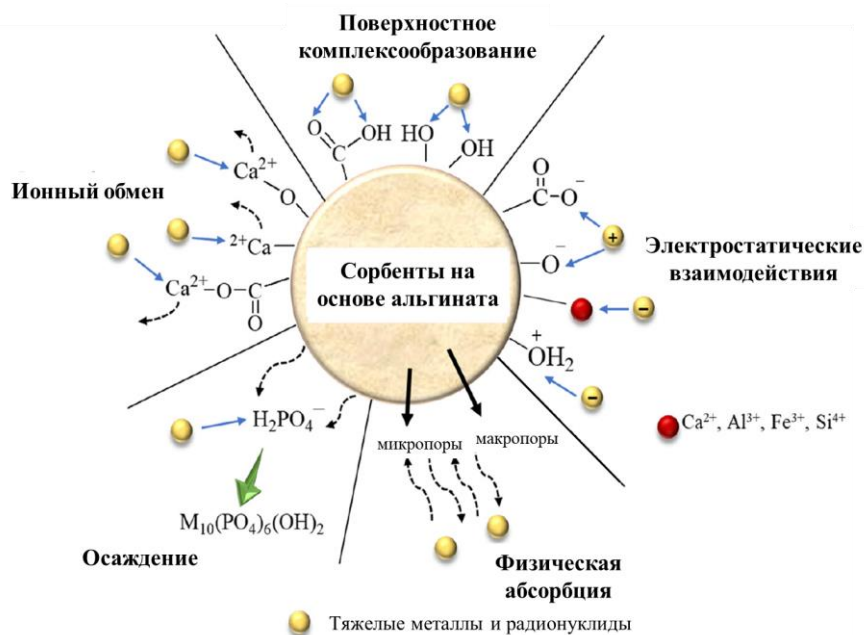


Рисунок 10. Механизмы сорбции ионов тяжелых металлов на альгинатных сферах [103].

Для тканевой инженерии важна синхронизация скорости разложения материала с ростом новой ткани, поэтому в литературе рассматриваются различные химические модификации альгината для управления разложением альгината. Например частичное окисление периодатом натрия (NaIO_4) приводит к образованию альгината-ди-альдегида, имеющего альдегидные группы, наличие которых обеспечивает возможность гидролиза соединения [107]. Такой подход улучшает прикрепление и пролиферацию клеток, что полезно в инженерии хрящей, костей и кровеносных сосудов [108]. Также описана радиационная деградация альгината под воздействием гамма-облучения, которая заключается в разрыве гликозидной связи с формированием карбонильных и карбоксильных групп и приводит к заметному снижению молекулярной массы при дозах порядка 10 кГр [109].

Альгинатные гидрогели, содержащие радионуклиды, активно исследуются как материалы для биомедицинской визуализации, главным образом для позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ). Возможность сшивания альгината катионами In^{3+} и Zr^{4+} рассматривается для мечения альгинатных сфер такими радионуклидами как ^{111}In и ^{89}Zr для ОФЭКТ и ПЭТ соответственно. При этом была показана более высокая и воспроизводимая устойчивость к десорбции радионуклида у альгинатных сфер с ^{111}In по сравнению со сферами содержащими ^{89}Zr . На мышинной модели была продемонстрирована успешная визуализация имплантации материала в стенку миокарда путем инъекции раствора альгината (рисунок 11), имплантации поддерживающей матрицы для

дифференцировки стволовых клеток в мышце бедра, а также визуализация назальной и пероральной доставки лекарств [110]. Авторы другой работы разработали микросферы для ПЭТ с использованием химически модифицированного полиэтиленгликолем альгинатного биополимера, меченного ^{68}Ga , который хелатируется с помощью NOTA. Микросферы продемонстрировали высокую стабильность (92%) в сыворотке крови человека, а полученные ПЭТ-изображения показали распределение микросфер в организме мыши и пути их выведения после внутримышечной и внутривенной инъекций [111].

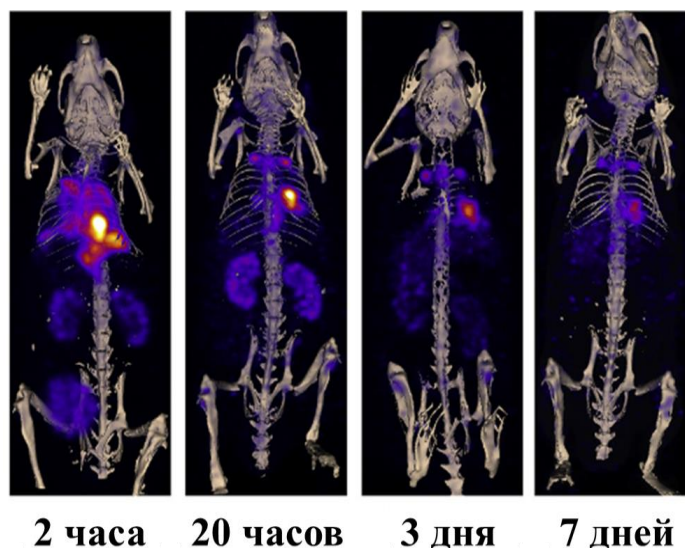


Рисунок 11. Проекционное изображение ОФЭКТ, демонстрирующее динамику имплантации альгината с ^{111}In в сердце и выведение не задержавшегося материала через почки и мочевой пузырь [110].

В литературе есть примеры исследований альгинатных гидрогелей в качестве пассивного средства доставки терапевтических радионуклидов. Доставка радионуклида основана на введении раствора альгината натрия, содержащего радионуклид, в целевой орган с последующим сшиванием альгината, которое «фиксирует» радионуклид в месте введения. Одна из работ предлагает введение раствора альгината натрия с ^{188}Re (также рассматривается комбинация с препаратом цисплатин) с помощью инъекции в опухоль и последующим введением сшивающего агента в виде раствора CaCl_2 в тоже место. Эксперименты, проведенные на крысах, показали заметное замедление роста опухоли и локализацию радионуклида в целевом органе через 48 часов после инъекции [112]. Другое исследование предлагает использование инкапсулированных в альгинатный гидрогель частиц диоксида кремния, содержащих ^{90}Y . Сшивка альгината происходит при высвобождении CaCl_2 из заключенных в гель липосом (полюе сферы с липидными слоями) при нагревании гидрогеля после его введения в организм до температуры тела ($> 36\text{ }^\circ\text{C}$). Таким образом, данный подход предполагает одну инъекцию, что упрощает процедуру и улучшает ее воспроизводимость. Эксперименты на свиньях продемонстрировали пригодность метода для лечения органов с низкой перфузией: при

внутримышечном введении более 90% радиоактивности локализовалось в месте введения в объеме около 10 см^3 [113].

1.7. Гидроксиапатит и носители радионуклидов на его основе

Термин «апатит» относится к минеральным соединениям, имеющим сходную трехмерную структуру составляющих ионов с общей формулой вида $M_{10}(XO_4)_6Z_2$, где M^{2+} это металл, а XO_4^{3-} и Z^- это анионы. Одним из наиболее известных представителей апатитов является гидроксиапатит (ГАП) с химической формулой $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, в которой M – кальций (Ca^{2+}), X – фосфор (P^{5+}), а Z – гидроксильный радикал (OH^-). Атомное соотношение Ca/P для стехиометрического гидроксиапатита равно 1.67. Как правило, гидроксиапатит кристаллизуется в гексагональной сингонии с пространственной группой $P6_3/m$ и имеет параметры элементарной ячейки: $a = b = 9.418 \text{ \AA}$, $c = 6.884 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = 90^\circ$, $\gamma = 120^\circ$. Кристаллическая структура гидроксиапатита, изображенная на рисунке 12, основана на тетраэдрах PO_4^{3-} , которые образуют трехмерный каркас. Тетраэдры PO_4^{3-} в элементарной ячейке разделены на два слоя высотой $1/4$ и $3/4$ соответственно, что приводит к образованию двух типов каналов А и В вдоль оси c . Стенки каналов типа А заняты атомами кислорода фосфатной группы и ионами кальция типа II (Ca_{II}). Каналы типа В заняты другими ионами кальция типа I (Ca_I). В каждой ячейке имеется два таких канала, каждый из которых содержит два иона кальция на высотах 0 и $1/2$. В стехиометрическом гидроксиапатите центры каналов типа А заняты ионами OH^- с чередующейся ориентацией [114].

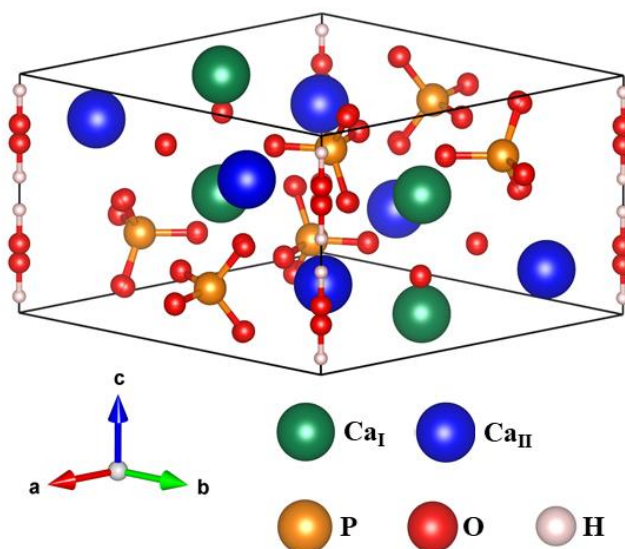


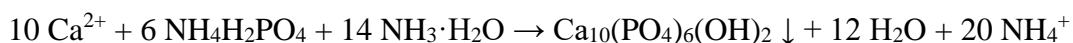
Рисунок 12. Кристаллическая структура гексагонального гидроксиапатита $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ с пространственной группой $P6_3/m$.

Следует отметить, что гидроксиапатиты природного происхождения, содержащиеся в костной ткани человека и животных, имеют более сложную структуру. Они дефицитны по кальцию и не являются стехиометрическими ($1.5 < Ca/P < 1.67$). Формула кальций-дефицитного

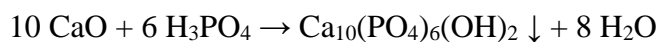
гидроксиапатита может быть записана как $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ [115]. Чем ближе соотношение Ca/P к 1.67, тем выше стабильность (инертность) материала на основе ГАП в организме человека. Уменьшение этого соотношения приводит к улучшению биоактивности такого материала [116]. Реакционная способность материалов на основе ГАП также зависит от его кристалличности и повышается для более аморфных частиц. На биоактивность влияют и примесные ионы, содержащиеся в гидроксиапатитах природного происхождения, например CO_3^{2-} , Mg^{2+} , Na^+ , F^- и Cl^- [117].

Существует различные методы получения гидроксиапатита. Можно выделить термическую обработку натурального сырья (например костей животных) и синтетические методы [118–121]. Среди синтетических растворных методов синтеза стоит выделить следующие:

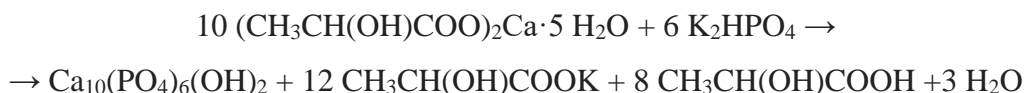
1. Традиционное осаждение ГАП в растворе, например по реакции между растворами хлорида кальция и дигидрофосфата аммония при щелочном pH [122]:



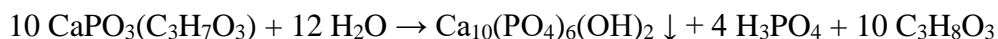
2. Титрование суспензии оксида кальция с помощью фосфорной кислоты от щелочного до нейтрального pH [123]:



3. Гидротермальный синтез (20 бар, 200 °C) в растворе пентагидрата лактата кальция и гидрофосфата калия [124]:



4. Ферментативный гидролиз глицерофосфата кальция [125]:



Перечисленные выше методы приводят к получению образцов различной морфологии. Так, в результате реакции между фосфорной кислотой и суспензией оксида кальция получаются высококристаллические наночастицы игольчатой морфологии. Осаждение из растворов хлорида кальция и дигидрофосфата аммония приводит к получению сферических частиц средней аморфности [126]. Гидротермальный синтез применяют для получения нитевидных кристаллов, а результатом ферментативного синтеза, как правило, являются микрометровые агломераты, состоящие из аморфных частиц. Термическая обработка полученных образцов позволяет повысить кристалличность образцов, но при этом изменяет их морфологию и увеличивает размер [127,128].

Материалы на основе ГАП широко используются в качестве искусственных заменителей костной ткани благодаря биосовместимости, биоактивности и остеокондуктивности [129,130]. Было показано, что наилучшими костными заменителями являются именно нестехиометричные гидроксипатиты, поскольку их состав наиболее близок к минеральному составу костей человека. Для лучшего соответствия особенностям структуры костных тканей и снижению хрупкости активно исследуются композитные материалы на основе ГАП и различных полимеров биологического и синтетического происхождения, которые способствуют созданию иерархической структуры кристаллов апатита. В качестве биополимеров, пригодных для создания подобных структур, рассматриваются коллаген, альбумин, хитин, хитозан, целлюлоза, альгинат и крахмал [131].

Гидроксипатит обладает хорошими сорбционными свойствами по отношению к различным катионам и анионам, что позволяет использовать его в качестве сорбента для очистки воды или для создания носителей радионуклидов для ядерной медицины. Широко известны работы по сорбции на гидроксипатите таких двухзарядных катионов металлов, как Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} и Sr^{2+} , главным образом за счет ионного обмена с ионами Ca^{2+} кристаллической решетки [132–135].

Существует ряд работ, предлагающих использовать наночастицы ГАП в качестве носителей радионуклидов для их последующей доставки к пораженным органам [136–138]. Так, в одной из работ [136] была изучена сорбция ионов $^{225}\text{Ac}^{3+}$ и $^{228}\text{Ac}^{3+}$ на частицах ГАП различной текстуры, и было показано быстрое достижение стационарного состояния (10 мин) при сорбции на нанокристаллических частицах с оптимумом при $\text{pH} = 6 - 7$, что удобно использовать для медицинских целей. Десорбция за два часа в изотоническом растворе составила порядка 8%, что является приемлемым результатом. В другой работе [137] были определены параметры сорбции ионов иттрия на образцах гидроксипатита нанокристаллической морфологии и микросфер, синтезированных ферментативным методом. Показан более быстрый процесс сорбции в случае наночастиц ГАП и обнаружена более высокая сорбционная емкость для ферментативного ГАП (500 мг/г против 300 мг/г у нано ГАП). Также был изучен изотопный обмен между ^{89}Y в кристаллической решетке и ^{90}Y в растворе и показана пригодность данного подхода для мечения частиц ГАП в нанокристаллическом состоянии.

Меченные радионуклидами частицы ГАП было предложено использовать в лучевой синовэктомии, малоинвазивном методе лечения воспаления суставов вследствие ревматоидного артрита [139]. Методика лечения предполагает загрузку микросфер, содержащих ^{90}Y или ^{166}Ho , в матрицу гиалуроновой кислоты и последующее введение препарата пациенту с болезненным артритом коленного сустава (рисунок 13). Синтезированные нанопористые микрочастицы диаметром 1 – 10 мкм продемонстрировали высокую сорбционную способность по отношению

к ^{90}Y и ^{166}Ho , что позволило использовать для мечения радиоизотопы с низкой удельной активностью, полученные в исследовательских реакторах. В результате лечения пациента, страдающего от ревматоидного артрита, с помощью ОФЭКТ/КТ-визуализации была продемонстрирована селективная локализация меченого радиоактивного агента в синовиальной полости и сделан вывод о применимости микросфер ГАП в клинической практике.



Рисунок 13. Применение меченых микросфер ГАП в лучевой синовэктомии при лечении воспаления суставов в следствие ревматоидного артрита [139].

1.8. Выводы из обзора литературы и выбор объектов исследования

В таблице 1 представлены примеры разрабатываемых последние десятилетия носителей радионуклидов на основе полимеров для терапии онкологических заболеваний. Проведенный анализ литературы свидетельствует о наличии тренда на разработку биосовместимых полимерных материалов-носителей радионуклидов с возможностью их разложения для методов брахитерапии и радиоэмболизации. Данные методы лечения характеризуются низкой инвазивностью, высокой дозой облучения раковых клеток и минимальными повреждениями здоровых тканей. Тем не менее существуют нерешенные проблемы брахитерапии и радиоэмболизации, такие как неравномерность распределения дозы по опухоли и невозможность в большинстве случаев удаления источников после проведения терапии, что может приводить к воспалительным процессам. Данные проблемы могут быть решены при использовании в терапии разлагаемых носителей. Помимо этого, идут активные исследования гидрогелевых носителей радионуклидов для послеоперационной терапии, что в будущем позволит решить проблему рецидива опухоли.

Возможность деградации и разложения новых носителей радионуклидов делает такие материалы промежуточным звеном между традиционными радиофармпрепаратами и закрытыми источниками излучения, которые применяются в брахитерапии и радиоэмболизации. Они с одной стороны способны постепенно разрушаться и выводиться из организма, а с другой стороны частично высвобождают радионуклид в окружающие ткани. Это с одной стороны обеспечивает

равномерное распределение терапевтического эффекта, но с другой стороны вызывает вопросы с точки зрения безопасности подобных материалов. Ключ к разрешению данной проблемы сводится к подбору подходящей скорости деградации, которая бы не приводила к избыточному высвобождению радионуклида. Таким образом, важной задачей является поиск материалов и способов их модификации для создания новых носителей, отвечающих данному требованию. Из литературных данных следует, что выход менее 10% радионуклида из носителя за период полураспада позволяет говорить о целесообразности дальнейших испытаний *in vivo*, поэтому данный параметр является одним из ключевых при исследовании нового носителя.

Помимо удерживания радионуклида стоит обратить внимание и на метод включения радионуклида в носитель, поскольку разлагаемые материалы, как правило, не будут устойчивы в условиях нейтронного потока, который применяется, например, для мечения стеклянных сфер в радиоэмболизации. В литературе часто рассматриваются способы мечения разлагаемых носителей в процессе их синтеза, что однако накладывает ограничения на их практическое применение, поскольку требует наличия лаборатории с необходимым оборудованием в клинике, а также приводит к потере части активности при длительной промывке и образованию радиоактивных отходов. Мечение радионуклидами с помощью процессов сорбции на готовые носители или изотопного обмена может быть оптимальным вариантом благодаря высокой скорости данных процессов и возможности практически полного извлечения активности из раствора.

Альгинаты обладают возможностью образовывать гидрогели, инкапсулировать различные вещества и пролонгировано их высвободить. Они биосовместимы, могут разлагаться в определенных условиях и обладают сорбционной способностью по отношению к металлам, за счет чего являются перспективными носителями радионуклидов для противораковой терапии. При этом для носителей на основе альгината натрия было проведено лишь несколько испытаний *in vivo* для определения их терапевтической эффективности в радиотерапии, а для альгинатных сфер, сшитых различными катионами металлов, такие исследования неизвестны.

В работе рассматриваются альгинаты кальция, как самые известные и применяемые в медицине; альгинаты железа, известные своими управляемыми свойствами, важными для доставки лекарств; и альгинаты иттрия, которые не являются достаточно изученными. В качестве радионуклидов были выбраны хорошо известные в медицине высокоэнергетические бета-излучатели ^{90}Y и ^{32}P . Они обладают относительно небольшими периодами полураспада и достаточной для терапевтического воздействия проникающей способностью излучения. При этом, за счет ограниченности пробега в тканях несколькими миллиметрами, бета-излучение практически не повреждает соседние с опухолью здоровые ткани, что важно для брахитерапии и радиоэмболизации. Для мечения альгинатных сфер радионуклидами было принято решение

использовать их сорбционную способность, поэтому в работе рассмотрены процессы включения в гидрогель ^{90}Y в виде $^{90}\text{Y}^{3+}$ и ^{32}P в виде фосфат-ионов в водном растворе. С целью улучшения сорбционных свойств и стабильности носителей было предложено модифицировать альгинатные сферы минеральными включениями гидроксиапатита, который в предыдущих исследованиях был признан перспективным носителем ^{90}Y и других радионуклидов [137,138].

Таблица 1. Рассмотренные в обзоре литературы носители радионуклидов для терапии на основе полимеров и их ключевые характеристики.

Носитель	Нуклиды Назначение	Способ мечения	Разлагаемость в организме	Выход нуклида в среду за $1 \tau_{1/2}$	Источник
Микрочастицы фосфата хрома- поли(L-лактида)	^{32}P Брахитерапия	Инкапсуляция твердых частиц	Полная за 6-9 месяцев в тканях	7% (0.9% NaCl) 7% (из опухоли)	[23–25]
Наночастицы MOF (полимеры тримезиновой кислоты)	^{90}Y Нано- брахитерапия	Сшивание в растворе $\text{Y}(\text{NO}_3)_3$	Заметна через 10 суток в фосфатном буфере	2.5% (H_2O) 5-10% (сыворотка) 20% (из опухоли)	[28]
Микросферы хитозана и оксида магния	^{177}Lu Радио- эмболизация + ОФЭКТ/КТ	Сшивание в присутствии LuCl_3	Полная за 5 месяцев в сыворотке	10% (сыворотка) 40% (из печени)	[45]
Микросферы альбумина и хелатора ДТРА	^{90}Y Радио- эмболизация	Хелатирование в растворе YCl_3 , промывка и синтез сфер	Период полувыведения 19 суток	менее 5% (сыворотка) 10% (из легких)	[55]
Гидрогели акрилатов ПЭГДА с нано- частицами (CuS, Au)	^{125}I , ^{131}I Фото- термическая брахитерапия + ОФЭКТ/КТ	Фиксация меченных частиц за счет геле- образования в опухоли	Возможно радиационное разложение	37 % (из опухоли)	[64,65]
Микрогели КМЦ с металлами (Cu, Bi)	^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{207}Bi Терапия рака крови + ПЭТ	Комплексо- образование в растворе	Возможно радиационное разложение	Практически полное выведение из организма за 24 ч	[69,70]
Раствор альгината Na, сшивание CaCl_2 в опухоли	^{188}Re Радиотерапия	Сорбция хлорида Re	Возможно радиационное разложение	- хорошая локализация в месте введения	[112]
Альгинатный гидрогель с частицами SiO_2 , сшивание CaCl_2 в опухоли	^{90}Y Радиотерапия	Инкапсуляция твердых частиц		10% (из места введения)	[113]
Микросферы ГАП в матрице гиалуроновой кислоты	^{90}Y , ^{166}Ho Лучевая синовэктомия	Сорбция YCl_3 , HoCl_3 на ГАП	Полная за 6-12 месяцев	$\approx 0\%$ (0.9% NaCl) хорошая локализация в месте введения	[139]

2. Экспериментальная часть

2.1. Материалы и реагенты

Альгинат натрия (110 кДа, M/G = 1.1, Реахим), х.ч.; щелочная фосфатаза (из телячьей кишки, активность 20 ед/мг, Sigma-Aldrich); хлорид кальция (Реахим), х.ч.; нитрат иттрия 6-ти водный (Реахим), х.ч.; хлорид железа 6-ти водный (Реахим), х.ч.; глицерофосфат кальция (Реахим), х.ч.; уксусная кислота (Реахим), х.ч.; соляная кислота (Реахим), х.ч.; фосфорная кислота (Реахим), х.ч.; азотная кислота (Реахим), х.ч.; карбонат кальция (Реахим), х.ч.; ацетат натрия (Реахим), х.ч.; гидрофосфат аммония (Реахим), х.ч.; ксиленоловый оранжевый (Вектон), х.ч.

Были использованы коммерческие наборы реагентов для определения концентрации ионов кальция «Кальций-ОЛЬВЕКС» (Ольвекс Диагностикум, Россия), состоящий из буферного раствора (рН 10.7, моноэтаноламин 0.75 М, соляная кислота) и раствора хромогена (окрезолфталеинкомплексон 0.3 мМ, 8-оксихинолин 7.0 мМ, диметилсульфоксид 0,64 М и соляная кислота 4.5 мМ); фосфора «Фосфор-ОЛЬВЕКС» (Ольвекс Диагностикум, Россия), состоящий из раствора молибденового реагента (серная кислота 380 мМ, хлорид натрия 150 мМ, молибдат аммония 1.9 мМ) и раствора поверхностно-активного вещества (Tween 20 407 мМ в метаноле); железа «ЖЕЛЕЗО-4-ОЛЬВЕКС» (Ольвекс Диагностикум, Россия), состоящий из буферного раствора (рН 4.5, ацетатный буфер 1.67 М, гидрохлорид гидроксиламина 355 мМ, тиомочевина 26.3 мМ, натрий бензоат 0.5 г/л, Tween 20 20 г/л) и раствора хромогена (Ферен-С 20.3 мМ, азид натрия 0.5 г/л). Для определения активности щелочной фосфатазы использовали набор «Щелочная фосфатаза-Ново» (Вектор-Бест, Россия), состоящий из буферного раствора (рН 10.3, диэтаноламин 1.43 М, хлорид магния 0.62 мМ, азид натрия 0.1%) и раствора субстрата (динатриевая соль п-нитрофенилфосфата 50 мМ, азид натрия 0.1%).

2.2. Синтез образцов

Синтез суспензионного гидроксиапатита (ГАПс) проводили с помощью реакции между H_3PO_4 и CaO в водной среде. CaO предварительно получали прокаливанием в корундовом тигле CaCO_3 при 900 °С в воздушной атмосфере. Затем 10 г CaO добавляли к 200 мл воды и гомогенизировали с помощью магнитной мешалки до образования однородной суспензии. H_3PO_4 с концентрацией 3.2 М добавляли к раствору по каплям с помощью лабораторной бюретки, рН раствора контролировали с помощью рН метра. Реакцию останавливали при достижении рН = 7.0. Для исследования полученных образцов суспензию высушивали в сушильном шкафу при 60 °С и затем мололи в агатовой ступке.

Ферментативный синтез гидроксиапатита (ГАПф) проводили реакцией ферментативного гидролиза глицерофосфата кальция в присутствии фермента щелочной фосфатазы. Реакцию

гидролиза запускали добавлением раствора фермента к раствору глицерофосфата кальция $C_3H_7CaO_6P$, взятого в концентрации 0.02 М в ТРИС буфере с $pH=9.1$. Рабочая концентрация фермента составляла 0.5 мкг/мл. Синтез проводили в течение 7 суток. Затем полученный осадок отделяли от раствора с помощью фильтрации под вакуумом и высушивали в сушильном шкафу при 60 °С.

Альгинатные сферы, сшитые кальцием и иттрием, получали прикапыванием раствора альгината натрия к растворам сшивателей: 0.2 М раствору хлорида кальция с $pH\sim 7$ (АСа) и 0.2 М раствору нитрата иттрия с $pH\sim 5$ (АУ). Синтез сфер альгината железа проводили в растворе сшивателя хлорида железа с концентрацией 0.2 М в воде с $pH\sim 1$ (АFe), а также в присутствии 0.5 М HCl (АFeCl). Стандартная концентрация раствора альгината натрия при синтезе неминерализованных альгинатных сфер составляла 50 г/л. Для прикапывания использовали шприцевой насос QHZS-001B (Китай) и 20 мл шприцы с иглой калибра 21G (внутренний диаметр 0.51 мм). Скорость подачи жидкости составляла 1.3 мл/мин. Сшивка альгината происходила в течение 2 суток.

Синтез ферментативно минерализованных альгинатных сфер проводили согласно схеме, изображенной на рисунке 14 А. К 1 мг/мл раствору щелочной фосфатазы в воде порциями добавляли альгинат натрия, перемешивая смесь на магнитной мешалке при температуре 40 °С до полного растворения. Итоговая концентрация альгината натрия в растворе составляла 0.05 мг/мл. Альгинатные сферы получали прикапыванием раствора альгината натрия и щелочной фосфатазы к 0.2М раствору хлорида кальция с $pH\sim 7$ (АСаГАПф) или 0.2 М раствору нитрата иттрия с $pH\sim 5$ (АУГАПф). После сшивки альгината в течение 2 суток сферы отмывали в воде и помещали в 0.02М раствор глицерофосфата кальция для минерализации, где выдерживали их в течение 2 суток. Минерализация заключалась в образовании частиц фосфатов кальция в полученных сферах в результате реакции ферментативного гидролиза глицерофосфата кальция в присутствии щелочной фосфатазы.

Для синтеза минеральной фазы внутри сфер с помощью осаждения сначала готовили 20 мл 0.2М раствора гидрофосфата аммония, в котором затем растворяли альгинат натрия в концентрации 50 г/л. После этого, полученный раствор прикапывали к 0.2М раствору хлорида кальция с $pH\sim 7$ (АСаГАП7) и к 0.2М раствору хлорида кальция с добавлением аммиака с $pH\sim 10$ (АСаГАП10). В результате в процессе сшивки также происходило осаждение частиц фосфатов кальция внутри сфер. Полученные сферы выдерживали в сшивающем растворе неделю для формирования внутри сфер минеральной фазы и затем отмывали водой.

Для синтеза композитов с суспензионным гидроксипатитом (ГАПс) использовали более разбавленный раствор альгината натрия с концентрацией 30 г/л, смешанный с суспензией ГАП, исходная концентрация которой составляла 40 г/л. Кальциевые и иттриевые альгинатные сферы

с гидроксиапатитом АСаГАПс и АУГАПс получали добавлением раствора альгината натрия по каплям к 0.2М раствору хлорида кальция или нитрата иттрия. Для композитных сфер на основе альгината железа использовали 0.2М раствор хлорида железа в воде (рН~1) или в 0.2М ацетатном буфере (CH_3COONa , CH_3COOH , рН = 4.3). В результате были получены сферы АFeГАПс1 и АFeГАПс2 соответственно (рисунок 14 Б). Затем сферы выдерживали в растворе в течение двух суток и в дальнейшем многократно промывали дистиллированной водой.

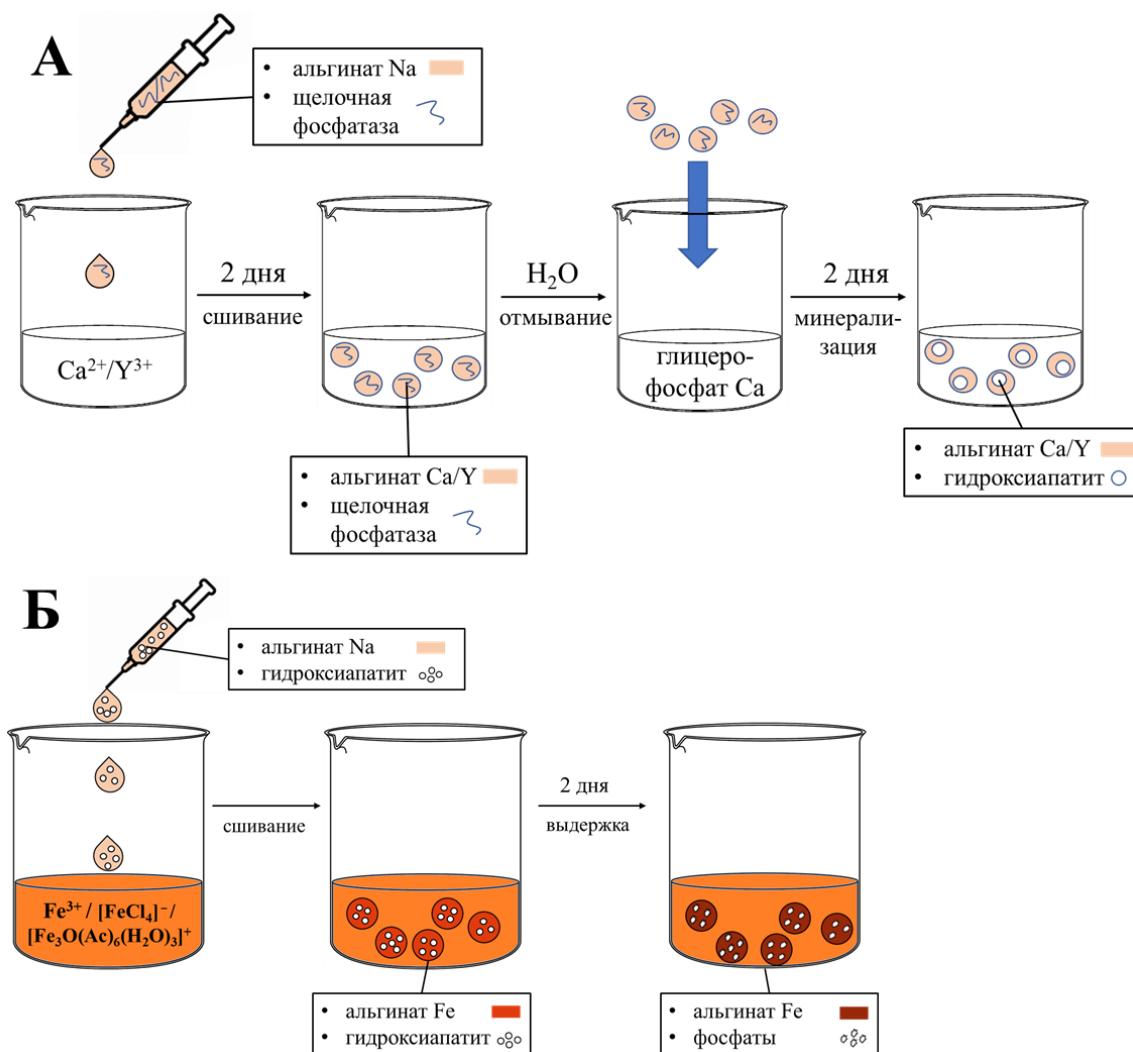


Рисунок 14. А) Схема синтеза ферментативно минерализованных сфер альгината кальция и иттрия (АСаГАПф и АУГАПф). Б) Схема синтеза минерализованных суспензионным гидроксиапатитом сфер альгината железа (АFeГАПс1 и АFeГАПс2).

В таблице 2 представлены все полученные в ходе работы образцы вместе с условиями их получения. Для некоторых исследований образцы сфер высушивали в сушильном шкафу при $60\text{ }^\circ\text{C}$ и затем размалывали в агатовой ступке до однородного порошка. Для аналитических методов определения элементного состава сферы помещали в смесь 9 мл концентрированной азотной кислоты и 1 мл 30% перекиси водорода, затем проводили разложение альгинатов при $210\text{ }^\circ\text{C}$ в автоклаве микроволновой печи ETHOS UP Microwave Digestion System.

Таблица 2. Список полученных образцов, их предполагаемый состав и условиях получения.

Образец	Предполагаемый состав	Условия
ГАПс	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Реакцию CaO и H_3PO_4 останавливали при $\text{pH} = 7.0$
ГАПф	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	ферментативный синтез, 7 суток, 0.5 мкг/мл щелочной фосфатазы
АNa	Альгинат натрия	-
АСа	Альгинат кальция	Сшиватель: 0.2 М CaCl_2 Гидрогель: 50 г/л альгината Na
АСаГАП10	Альгинат кальция/ГАП	Сшиватель: 0.2 М CaCl_2 , р-р NH_3 , $\text{pH} = 10$. Гидрогель: 50 г/л альгината Na и 0.2 М $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
АСаГАП7	Альгинат кальция/Брушит	Сшиватель: 0.2 М CaCl_2 , $\text{pH} \sim 7.0$. Гидрогель: 50 г/л альгината Na и 0.2 М $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
ГАПф(А1)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	ферментативный синтез над альгинатом в растворе, 0.5 мкг/мл щелочной фосфатазы
ГАПф(А2)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	ферментативный синтез в альгинате, 0.5 мкг/мл щелочной фосфатазы
АУ	Альгинат иттрия	Сшиватель: 0.2 М $\text{Y}(\text{NO}_3)_3$ Гидрогель: 50 г/л альгината Na
АСа-ЩФ	Альгинат кальция/Щелочная фосфатаза	Сшиватель: 0.2 М CaCl_2 Гидрогель: 50 г/л альгината Na и 1 мг/мл щелочной фосфатазы
АУ-ЩФ	Альгинат иттрия/Щелочная фосфатаза	Сшиватель: 0.2 М $\text{Y}(\text{NO}_3)_3$ Гидрогель: 50 г/л альгината Na и 1 мг/мл щелочной фосфатазы
АСаГАПф	Альгинат кальция/ГАП	Сшиватель: 0.2 М CaCl_2 Гидрогель: 50 г/л альгината Na и 1 мг/мл щелочной фосфатазы Минерализация: 0.02 М $\text{C}_3\text{H}_7\text{CaO}_6\text{P}$
АСаГАПс	Альгинат кальция/ГАП	Сшиватель: 0.2 М CaCl_2 Гидрогель: 30 г/л альгината Na; 40 г/л суспензии ГАП
АУГАПф	Альгинат иттрия/ГАП	Сшиватель: 0.2 М $\text{Y}(\text{NO}_3)_3$ Гидрогель: 50 г/л альгината Na и 1 мг/мл щелочной фосфатазы Минерализация: 0.02 М $\text{C}_3\text{H}_7\text{CaO}_6\text{P}$
АУГАПс	Альгинат иттрия/ГАП	Сшиватель: 0.2 М $\text{Y}(\text{NO}_3)_3$ Гидрогель: 30 г/л альгината Na; 40 г/л суспензии ГАП
АFe	Альгинат Fe	Сшиватель: 0.2 М FeCl_3 Гидрогель: 50 г/л альгината Na
АFeГАПс1	Альгинат Fe / ГАП	Сшиватель: 0.2 М FeCl_3 Гидрогель: 30 г/л альгината Na; 40 г/л суспензии ГАП
АFeCl	Альгинат Fe / $[\text{FeCl}_4]^-$	Сшиватель: 0.2 М FeCl_3 ; 0.5 М HCl Гидрогель: 50 г/л альгината Na
АFeГАПс2	Альгинат Fe / ГАП	Сшиватель: 0.2 М FeCl_3 + 0.2 М ацетатный буфер (CH_3COONa , CH_3COOH) с $\text{pH} = 4.3$ Гидрогель: 30 г/л альгината Na; 40 г/л суспензии ГАП

2.3. Характеризация образцов

Полученные сферы фотографировали с помощью окулярной цифровой камеры НУ-500DE (Науеар, Китай), подключенной к оптическому микроскопу МБС-9 (ЛЗОС, Россия). Радиус сфер измеряли с помощью программы ImageJ. Набухание высушенных сфер исследовали, измеряя изменение среднего радиуса сферы с течением времени.

Высушенные образцы покрывали углеродом на вакуумном испарителе HUS-5GB (Hitachi, Япония) или золотом на ионно-распылительной установке IB-3 Ion Coater (EIKO, Япония) и просматривали на сканирующем электронном микроскопе Quattro S (Thermo Scientific, США) с охлаждающим приводом Пельтье (от $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $+60\text{ }^{\circ}\text{C}$). Использовали режимы высокого вакуума (HV) и низкого вакуума (LV) или SEM окружающей среды (ESEM). Элементный состав анализировали с помощью приставки EDS: ANAX-30P-B с разрешением 129 эВ.

Рентгенофазовый анализ образцов проводили на дифрактометре Rigaku Miniflex 600 с медной трубкой $\text{CuK}\alpha 1.2$ и линейным полупроводниковым детектором D/teX Ultra (излучение $\text{CuK}\alpha 1$ $\lambda=1,5418\text{ \AA}$) в режиме отражения в диапазоне $2\theta = 3 - 70^{\circ}$, шаг 0.02 ; скорость вращения $3^{\circ}/\text{мин}$. Дифрактограммы обрабатывали методом МНК с помощью программы WinXPow фирмы STOE. Идентификацию фаз проводили по порошковой базе данных ICDD PDF2.

ИК-спектры регистрировали на ИК Фурье-спектрометре EQUINOX 55/S (Bruker) в диапазоне $4000 - 360\text{ см}^{-1}$. Для ИК измерений высушенные сферы размалывали в агатовой ступке. Образцы смешивали с KBr в соотношении 1:100, прессовали таблетки массой 100 мг и диаметром 13 мм при давлении $8\text{ тонн}/\text{см}^2$. Полученные спектры обрабатывались с помощью программы OPUS (Bruker) с коррекцией базовой линии.

КР-спектры регистрировали на приборе Bruker Equinox 55/S, оснащенный приставкой комбинационного рассеяния FRA 106/S, в диапазоне $3280 - 160\text{ см}^{-1}$. Длина волны возбуждающего излучения 1064 нм, диаметр пятна на образце 0.1 мм, мощность лазера 600 – 800 мВт. Размолотые образцы запрессовывали в специальные держатели из алюминия. Экспериментальные КР-спектры корректировали вычитанием фона в программе OPUS 6.0 (Bruker) и нормировали по интенсивности самой сильной полосы СН-.

2.4. Методики спектрофотометрического определения элементов

Содержание Y^{3+} в растворах определяли спектрофотометрически по образованию окрашенного комплекса с ксиленоловым оранжевым. Для этого смешивали 3 мл ацетатного буфера с рН 5.8–6.0, 0.4 мл 0.001М раствора ксиленолового оранжевого и 1.6 мл водного раствора, содержащего иттрий. Оптическую плотность определяли при длине волны 578 нм в кювете с длиной оптического пути 1.0 см относительно раствора сравнения, содержащего 3 мл

буфера, 0.4 мл раствора красителя и 1.6 мл воды, на спектрофотометре UV-1280 (Shimadzu, Япония).

Содержание кальция в растворах определяли спектрофотометрически по образованию окрашенного комплекса с о-крезолфталеинкомплексом. Для этого смешивали 1 мл буферного раствора, 1 мл хромогена и 50 мкл анализируемого раствора. Оптическую плотность растворов измеряли при длине волны 570 нм в кювете с длиной оптического пути 1.0 см относительно раствора сравнения, содержащего 1 мл буферного раствора, 1 мл раствора хромогена и 50 мкл воды, на спектрофотометре UV-1280 (Shimadzu, Япония).

Содержание фосфата в растворах определяли спектрофотометрически по образованию окрашенного фосфатно-молибдатного комплекса. Рабочий раствор для определения фосфата готовили смешением раствора молибденового реактива и раствора поверхностно-активного вещества в соотношении 100:1. К 2 мл рабочего раствора добавляли 20 мкл анализируемого раствора и измеряли оптическую плотность при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 1.0 см относительно раствора сравнения, содержащего 2 мл рабочего раствора и 20 мкл воды, на спектрофотометре UV-1280 (Shimadzu, Япония).

Содержание железа в растворах определяли спектрофотометрически по образованию окрашенного комплекса ионов Fe^{2+} с Ференом-С. Восстановление ионов Fe^{3+} до Fe^{2+} выполняли путем добавления восстанавливающего буферного раствора, содержащего гидрохлорид гидроксилamina. Рабочий раствор для определения железа готовили смешением раствора хромогена и восстанавливающего буфера в соотношении 20:1. К 1.8 мл рабочего раствора добавляли 10 мкл исследуемого раствора и 0.05M серной кислоты для предотвращения гидролиза и измеряли оптическую плотность при длине волны 595 нм в кювете с длиной оптического пути 1.0 см относительно раствора сравнения, содержащего 1.8 мл рабочего раствора и 10 мкл воды, на спектрофотометре UV-1280 (Shimadzu, Япония).

2.5. Кинетика сшивки альгинатных сфер

Были приготовлены растворы нитрата иттрия, хлорида кальция и хлорида железа с концентрацией 0.2 М и раствор альгината натрия с концентрацией 50 г/л. С помощью шприцевого насоса к растворам Y^{3+} , Ca^{2+} и Fe^{3+} прикапывали соответствующее количество раствора альгината аналогично синтезам, изложенным в разделе 2.2. Соотношения объемов растворов сшивателя и альгината кальция составляли 5:2. Отбирали аликвоты объемом 15 мкл через заданные промежутки времени. Содержание иттрия, кальция и железа в аликвоте определяли по описанным выше методикам спектрофотометрического определения (раздел 2.4).

2.6. Кинетика выхода щелочной фосфатазы

Высвобождение щелочной фосфатазы в процессе сшивания исследовали, измеряя ее ферментативную активность в растворе сшивающего агента и используя радиоактивный индикатор – щелочную фосфатазу, меченную тритием.

Для определения ферментативной активности готовили рабочий раствор для определения активности щелочной фосфатазы, смешивая буферный раствор и раствор субстрата в соотношении 4:1. Через определенные промежутки времени отбирали 20 мкл раствора сшивающего агента, добавляли к 1 мл рабочего раствора и инкубировали в термостате при температуре 36 °С в течение 2 минут. Затем реакцию останавливали добавлением 2 мл 0.5М раствора гидроксида натрия. Оптическую плотность определяли относительно раствора сравнения, содержащего 1 мл рабочего раствора, 2 мл 0.5М раствора гидроксида натрия и 20 мкл воды, с помощью спектрофотометра UV-1280 (Shimadzu, Япония) при длине волны 405 нм в кювете с длиной оптического пути 1.0 см.

В качестве радиоактивного индикатора использовали меченную тритием щелочную фосфатазу с удельной активностью 0.44 ± 0.01 мКи/мг, предоставленную сотрудниками лаборатории радионуклидов и меченых соединений химического факультета МГУ, которая была синтезирована методом термической активации трития [140]. Альгинатные сферы синтезировали по описанному выше методу (раздел 2.2), используя смесь меченой и немеченой фосфатазы с общей концентрацией 1 мг/мл и активностью 85 кБк/мл. Через определенные промежутки времени отбирали пробы раствора сшивающего агента объемом 20 мкл и добавляли их к 3 мл жидкостного сцинтилляционного коктейля UltimaGold (PerkinElmer, США). Скорость счета измеряли на жидкостном сцинтилляционном спектрометре Tri-Carb 2810TR (PerkinElmer, США).

2.7. Кинетика сорбции

Для определения кинетики сорбции катионов иттрия на альгинатных сферах 10 мл раствора нитрата иттрия с концентрацией 0.7 г/л прибавляли к 2.5 г альгинатных сфер. Затем отбирали пробы объемом 20 мкл через промежутки времени от 0 мин до 2 суток. Содержание Y в растворе определяли спектрофотометрически по методике, приведенной в разделе 2.4. Сорбцию определяли как отношение массы сорбированного иттрия к массе альгинатных сфер. Для определения сорбционной емкости сферы выдерживали в 0.7 М растворе нитрата иттрия в течение 7 суток и затем отбирали пробы. Для определения обратимости сорбции иттрия на альгинатных сферах, сферы после сорбции убирали из раствора нитрата иттрия и промывали дистиллированной водой, затем сферы помещали в физиологический раствор 0.9 % NaCl. После отбирали пробы за разные промежутки времени и определяли содержание иттрия в растворе аналогично определению сорбции иттрия.

Для определения кинетики сорбции фосфат-ионов на альгинатных сферах 10 мл раствора дигидрофосфата калия с концентрацией 0.43 г/л прибавляли к 1 г альгинатных сфер. Затем отбирали пробы объемом 20 мкл через заданные промежутки времени от 0 мин до 2 суток. Содержание фосфора в растворе определяли спектрофотометрически по методике, приведенной в разделе 2.4. Сорбцию определяли как отношение массы сорбированного дигидрофосфата калия к массе альгинатных сфер. Для определения сорбционной емкости сферы выдерживали в растворе дигидрофосфата калия с концентрацией 40 г/л в течение 7 суток и затем отбирали пробы.

2.8. Связывание с радионуклидами и изотопный обмен

^{90}Y экстрагировали из равновесной смеси $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ в 14М азотной кислоте с помощью ТБФ, насыщенного азотной кислотой [141]. Затем ^{90}Y реэкстрагировали дистиллированной водой. Полученный водный раствор $[\text{}^{90}\text{Y}]\text{YNO}_3$ выпаривали досуха в кварцевом стакане. ^{90}Y смывали со стенок стакана либо 15 мл раствора нитрата иттрия, с концентрацией 0.012 М для изотопного обмена либо водой для сорбции без носителя. Полученный водный раствор $[\text{}^{90}\text{Y}]\text{YNO}_3$ объемом 3 мл и удельной радиоактивностью 67 кБк/мл приливали к 200 мг сфер в пластиковом флаконе, который затем ставили на шейкер. После 24 ч выдержки отбирали пробы в 200 мкл, измеряли активность ^{90}Y в растворе. Для этого пробы добавляли к 5 мл сцинтилляционного коктейля Ultima Gold (PerkinElmer, США). Скорость счета регистрировали с помощью жидкостного сцинтилляционного спектрометра Tri-Carb 1600TR (Packard, США). Для введения поправки на распад, использовали контрольную пробу, отобранную до добавления раствора к альгинатным сферам. Затем раствор над сферами удаляли и к ним приливали 3 мл дистиллированной воды или физиологического раствора. Затем аналогичным образом регистрировали выход $^{90}\text{Y}^{3+}$ в раствор.

При исследовании кинетики изотопного обмена $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$ в альгинатных сферах для каждой точки кривой обмена к 200 мг иттрийсодержащих сфер, выдержанных в 0.012М растворе нитрата иттрия добавляли 1 мл 0.012М раствора $[\text{}^{90}\text{Y}]\text{YNO}_3$ с удельной радиоактивностью 67 кБк/мл. Через определенное время отбирали пробу 0.5 мл из раствора и переносили в сцинтилляционные флаконы с 10 мл H_2O . Измерение активности ^{90}Y в растворе во время изотопного обмена производили на ЖС спектрометре Tri-Carb 1600TR (Packard, США) по черенковскому излучению. Для введения поправки на распад, использовали контрольный раствор, содержащий 1 мл раствора нитрата иттрия, содержащего ^{90}Y и 10 мл H_2O .

Раствор ^{32}P в виде $\text{H}_3[\text{}^{32}\text{P}]\text{O}_4$ в растворе 0.04М HCl активностью 3 ГБк и радиохимической чистотой 99% (Томский политехнический университет, Россия) предварительно нейтрализовали с помощью КОН и разбавили водой до необходимой удельной активности. Затем исследовали кинетику связывания фосфат-ионов. К 0.1 г отмытых в дистиллированной воде сфер приливали

5 мл раствора 10^{-8} М $\text{KH}_2[^{32}\text{P}]\text{O}_4$ с активностью 1 МБк и измеряли ее убывание с течением времени. Для этого через заданные интервалы времени из раствора отбирали пробы объемом 20 мкл и добавляли к 3 мл сцинтилляционного коктейля GoldStar Multi-purpose (Meridian, Великобритания). Скорость счета регистрировали с помощью жидкостного сцинтилляционного спектрометра Tri-Carb 2810TR (PerkinElmer, США). Для введения поправки на распад, использовали контрольную пробу, отобранную до добавления раствора к альгинатным сферам. Через неделю после начала измерений раствор над сферами удаляли. Затем сферы заливали 3 мл дистиллированной воды или изотоническим раствором 0.9% NaCl и аналогичным образом регистрировали выход фосфат-ионов в раствор. Изотопный обмен ^{31}P – ^{32}P проводили аналогично экспериментам с ^{90}Y , используя раствор KH_2PO_4 0.01 М в качестве носителя. Удельная радиоактивность раствора $[^{32}\text{P}]\text{KH}_2\text{PO}_4$ для эксперимента составила 350 кБк/мл.

2.9. Стабильность альгинатных сфер в модели биологической жидкости

Для изучения стабильности альгинатных сфер содержащих ^{90}Y и ^{32}P использовали модель биологической жидкости на основе бычьей сыворотки крови производства BioWest (N° S0250 Франция) с $\text{pH} = 7.95 \pm 0.55$ и осмоляльностью = 290 ± 40 мОсм/кг. В пробирки с 0.1 г сфер альгината активностью порядка 1 МБк приливали 5 мл сыворотки крови. Затем пробирки термостатировали в воздушном термостате при 36.6 °С, и в течение месяца из сыворотки отбирали пробы по 500 мкл и регистрировали скорость счета с помощью жидкостного сцинтилляционного спектрометра Tri-Carb 2810TR (PerkinElmer, США) по черенковскому излучению. Для корректного сопоставления измеренных значений радиоактивности в сферах и в сыворотке крови учитывали гашение в сыворотке крови. Для получения оптических микрофотографий аналогичным образом приливали сыворотку к нерадиоактивным сферам, и исследовали их на оптическом микроскопе МБС-9. Фотографии фиксировали с помощью цифровой камеры.

2.10. Статистическая обработка результатов

Для каждого измеренного значения было получено три повторения. Вариация данных выражалась среднеквадратичным отклонением (СКО). Значения представлены как среднее значение +/- СКО (n=3).

3. Результаты и их обсуждение

3.1. Капельный метод синтеза альгинатных сфер

На морфологию и свойства альгинатных сфер, полученных капельным способом, оказывают влияния такие параметры, как концентрация альгината натрия, концентрация и состав раствора сшивателя, высота падения капли и диаметр иглы. Поскольку для практического применения, например в радиоэмболизации, наиболее подходящей является форма близкая к сферической, то параметры синтеза были оптимизированы для получения образцов именно такой морфологии. Высота падения капли была подобрана исходя из литературных данных и составила 5 см, что является подходящим для получения частиц сферической формы [142]. Раствор подавали через медицинскую иглу калибра 21G с внутренним диаметром 0.51 мм и внешним диаметром 0.82 мм. Концентрация сшивающих катионов составляла 0.2 М, поскольку для быстрой сшивки с сохранением сферической формы капли необходим большой избыток катионов металлов по отношению к мономерам альгината. Влияние состава раствора сшивателя на получаемые сферы будет подробно описано в следующих разделах.

Концентрация раствора альгината натрия также является одним из важных параметров, который был оптимизирован в данной работе. На рисунке 15 А, Б и В представлены образцы альгинатов кальция при концентрациях от 10 г/л до 50 г/л. При повышении концентрации альгината форма становится более сферической и образуются более плотные сферы. При концентрации выше 50 г/л появляются проблемы с растворением навески альгината и приготовлении гомогенного раствора, поэтому именно такая концентрация была выбрана для большинства синтезов. Стоит отметить, что в случае приготовления смеси суспензии гидроксиапатита и раствора альгината натрия для синтеза композитных сфер (раздел 3.3) концентрацию альгината натрия уменьшали до 30 г/л, поскольку в противном случае готовая смесь получалась слишком вязкой для выдавливания через иглу.

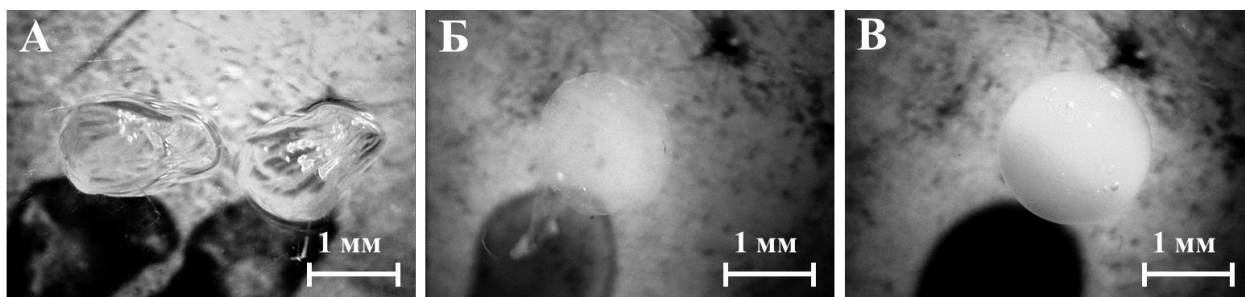


Рисунок 15. Оптические микрофотографии сфер альгината кальция, синтезированных при различных концентрациях альгината натрия: А) 10 г/л, Б) 30 г/л, В) 50 г/л.

Одним из важных параметров реакции сшивания альгината является соотношение мономера ($n_{\text{мон}}$) и сшивающего катиона ($n_{\text{мет}}$) в получаемых сферах: $n_{\text{мон}}/n_{\text{мет}}$. Для оценки этого

соотношения измеряли убыль концентрации Ca^{2+} , Y^{3+} и Fe^{3+} в процессе синтеза альгинатных сфер АСа, АУ и АFe. Начальное содержание катионов металлов в растворе после добавления альгината распределяется между раствором внутри сфер, раствором вне сфер и тем количеством, которое идет на процесс сшивания. Причем концентрации растворов внутри и вне сфер одинаковы. Тогда:

$$C_0 \cdot V_0 = C_p \cdot V_0 + C_p \cdot V_a + n_{мет} \quad (3)$$

где V_0 – объем сшивающего раствора, V_a – объем раствора альгината, $n_{мет}$, моль – количество связанных Ca^{2+} или Y^{3+} , C_p – концентрация Ca^{2+} или Y^{3+} в растворе после завершения синтеза.

В таблице 3 представлены параметры расчетов соотношения $n_{мон}/n_{мет}$. Видно, что полученные значения для кальция и иттрия близки к валентностям этих металлов. При этом для трехвалентного железа наблюдается отклонение от значения валентности, что объясняется частичным гидролизом ионов Fe^{3+} в маточном растворе и фиксацией осажденных гидроксоформ в полимерной сетке гидрогеля. Таким образом, происходит увеличение содержания железа в сфере относительно мономеров альгината.

Таблица 3. Параметры расчета количества связанного катиона металла

Образец - катион	C_0 , М	C_p , М	$n_{мет}$, МОЛЬ	$n_{мон}/n_{мет}$
АСа - Ca^{2+}	0.213 ± 0.006	0.105 ± 0.003	$(1.47 \pm 0.04) \cdot 10^{-4}$	2.1 ± 0.1
АУ - Y^{3+}	0.205 ± 0.006	0.134 ± 0.004	$(9.0 \pm 0.2) \cdot 10^{-5}$	3.4 ± 0.2
АFe - Fe^{3+}	0.210 ± 0.008	0.178 ± 0.007	$(1.42 \pm 0.04) \cdot 10^{-4}$	1.8 ± 0.1

Кинетика связывания катионов Ca^{2+} , Y^{3+} и Fe^{3+} с альгинатом представлена на рисунке 16. Видно, что основное изменение концентрации происходит за первые 30 минут синтеза. При описании кинетики следует учитывать, что механизм связывания детально неизвестен и может меняться в ходе процесса. Предположительно, он 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 полимерной сетки гидрогеля. Таким образом, лимитирующая стадия процесса может меняться со временем, и эффективная константа скорости процесса должна иметь временную зависимость. Одной из моделей, которая может описать такое поведение, является уравнение Авраами [143]:

$$\frac{dq}{dt} = knt^{n-1}(q_e - q) \quad (4)$$

Линеаризованная форма его решения имеет вид:

$$\ln \left(\ln \frac{q_e}{q_e - q} \right) = \ln k + n \ln t \quad (5)$$

где k , мин^{-n} – кинетическая константа Аврами, 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.

На рисунке 16 Б приведена обработка данных в координатах линеаризованной формы (5) решения уравнения Аврами (4). Данная модель хорошо описывает экспериментальные данные для катионов кальция и иттрия и удовлетворительно для катионов железа, что вероятно связано с более сложным механизмом связывания, который также включает гидролиз и осаждение гидроксоформ железа. В таблице 4 представлены параметры уравнения Аврами для синтеза сфер АСа, АУ и АFe. На основе полученных параметров n и констант k можно получить зависимость мгновенной эффективной константы процесса $K_{\text{эф}}$ от времени:

$$K_{\text{эф}} = knt^{n-1} \quad (6)$$

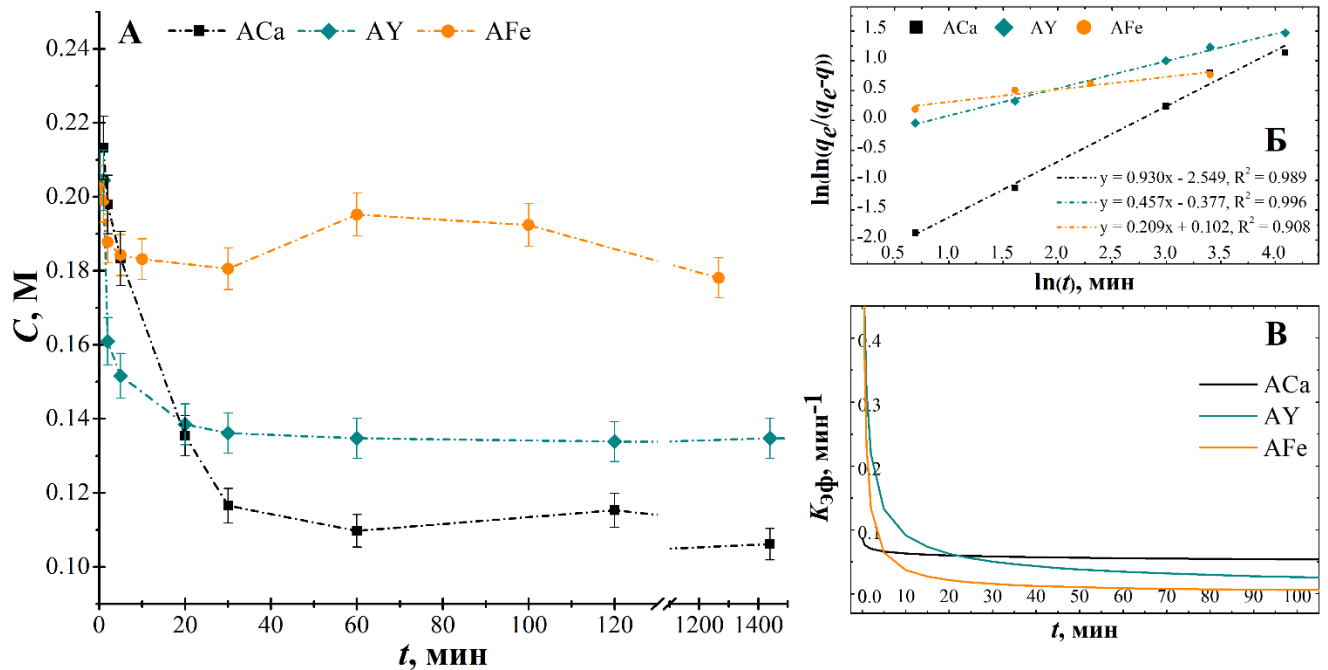


Рисунок 16. А) Динамика изменения концентрации Ca^{2+} , Y^{3+} и Fe^{3+} в растворе в ходе синтеза сфер АСа, АУ и АFe при $T = 20$ °С. Б) Обработка данных в координатах линеаризованной формы решения уравнения Аврами. В) Зависимость мгновенной эффективной константы от времени.

Таблица 4. Параметры уравнения Аврами для кинетики сшивания альгината Ca^{2+} , Y^{3+} и Fe^{3+}

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

Рассчитанные зависимости $K_{\text{эф}}$ представлены на рисунке 16 В. Видно, что скорость процесса сшивания в начальный момент времени для трехзарядных катионов Y^{3+} и Fe^{3+} быстрее, чем для двухзарядного Ca^{2+} , что вероятно связано с возможностью связывания катионов Y^{3+} и Fe^{3+} с МГ блоками [90], а также меньшими ионными радиусами в воде (для координационного числа 6: $R(\text{Ca}^{2+}) = 1.0 \text{ \AA}$, $R(\text{Y}^{3+}) = 0.87 \text{ \AA}$, $R(\text{Fe}^{3+}) = 0.62 \text{ \AA}$ [144]), что в совокупности приводит к быстрому образованию более компактной трехмерной структуры геля на поверхности капли.

С другой стороны, со временем, в связи с нарастающими диффузионными затруднениями вследствие образования более плотной сетки, скорость процессов для Y^{3+} и Fe^{3+} заметно падает, и значения $K_{\text{эф}}$ через 5 минут для Fe^{3+} и 22 минуты для Y^{3+} становятся ниже значений константы для Ca^{2+} . Дальнейшая скорость связывания катионов меняется незначительно и, в условиях одинаковой степени связывания, уменьшается в ряду кальций – иттрий – железо. Можно предположить, что в этом же ряду будет возрастать и неравномерность сшивки, сопровождаемая появлением макроструктуры сферы с плотной оболочкой и мягким ядром. Таким образом, для сфер альгината кальция предполагается наиболее равномерная по объему структура сферы, а для альгината железа наиболее неравномерная.

3.2. Синтез гидроксиапатита

В данной работе для модификации альгинатного гидрогеля используются частицы минеральной фазы ГАП. Для минерализации образцов использовали гидроксиапатит, полученный как суспензионным способом, так и с помощью ферментативного гидролиза глицерофосфата кальция. Этот раздел посвящен сравнению этих двух методов синтеза в водном растворе (ГАПс – суспензионный, ГАПф – ферментативный).

На рисунке 17 А представлены результаты порошковой рентгеновской дифракции образцов гидроксиапатита, полученных данными методами. При синтезе из суспензии оксида кальция получается хорошо закристаллизованная фаза гидроксиапатита, а в результате ферментативного синтеза наблюдается образование более аморфной фазы. В обоих вариантах синтеза помимо основной кристаллической фазы $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ наблюдается образование монетита CaHPO_4 . Доля монетита в кристаллической фазе согласно рентгеновской дифракции составляет порядка 5% для ГАПс и около 49% для ГАПф. Следует отметить, что для системы

CaO-H₃PO₄ характерно, как образование гидроксиапатита, так и образование монетита [145] и последний часто является прекурсором для синтеза гидроксиапатита [146].

Дифрактограмма образца ГАПс была проиндексирована в пространственной группе *R*6₃/*m* для фазы Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ и в *P*-1 для фазы CaHPO₄ (рисунок 17 Б). Параметры элементарных ячеек, уточненные методом Ле Бейла и представленные в таблице 5 и 6, хорошо согласуются с литературными данными. Объем элементарной ячейки Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ снижен относительно литературных данных, что может говорить об уменьшении содержания кальция в фазе вследствие образования примесной фазы CaHPO₄.

Аналогичным образом была обработана дифрактограмма образца ферментативного синтеза ГАПф. Объем элементарной ячейки гидроксиапатита образца ГАПф, уточненный методом Ле Бейла (таблица 5), оказывается заметно выше, чем в образце ГАПс и в литературных данных. Предположительно это связано с отклонением соотношения Са:Р от 5:3 для образцов, полученных ферментативным синтезом. На поздней стадии данной реакции может наблюдаться дефицит кальция в системе, связанный с тем, что соотношение Са:Р в глицерофосфате кальция составляет 1:1. Это вероятно и приводит к отклонению от стехиометрии и образованию кальций дефицитного гидроксиапатита с формулой Ca_{10-x}(HPO₄)_x(PO₄)_{6-x}(OH)_{2-x} и повышению объема его элементарной ячейки вследствие наличия HPO₄²⁻. Подобное изменение параметров элементарной ячейки для Са-дефицитного ГАП по сравнению с нормальным ГАП известно в литературе [147]. Параметры элементарной ячейки монетита CaHPO₄ для образца ГАПф близки к литературным данным (таблица 6).

Соотношение Са:Р в полученных частицах фосфатов кальция было определено спектрофотометрически при растворении синтезированных фосфатов. Полученное соотношение для ГАПс составляет 1.7 ± 0.1, что в пределах погрешности совпадает со стехиометрическим 1.67. Соотношение Са:Р равное 1.4 ± 0.1 для образца ГАПф свидетельствует о существенном дефиците кальция и хорошо согласуются с данными рентгеновской дифракции об образовании нестехиометрического ГАП и монетита.

Вследствие аморфности образца ГАПф для более полной его характеристики использовали ИК и КР спектроскопию. ИК-спектр образца ГАПф приведен на рисунке 18 А и Б. На спектре наблюдаются характерные для гидроксиапатита пики валентных и деформационных колебаний PO₄³⁻ групп: 1090, 1034, 960, 604, 566 см⁻¹, и -ОН групп: 3570 см⁻¹ и 632 см⁻¹ [148]. При этом, вероятно, участок от 1150 до 960 см⁻¹ является суперпозицией пиков, соответствующих разным фосфатным группам, таким как HPO₄²⁻ группа, которая присутствует как в нестехиометрическом ГАП, так и в монетите. На спектре присутствует и отдельный пик группы HPO₄²⁻ при 874 см⁻¹. Пики при 1455 см⁻¹ и 1422 см⁻¹ соответствуют группе CO₃²⁻, что указывает на наличие в аморфной фазе образца карбонатов кальция. Характерный пик группы

CO_3^{2-} в районе $870 - 880 \text{ см}^{-1}$, вероятно, имеет слишком низкую интенсивность для его обнаружения, из-за небольшого количества фазы или накладывается на колебание группы HPO_4^{2-} при 874 см^{-1} [149,150].

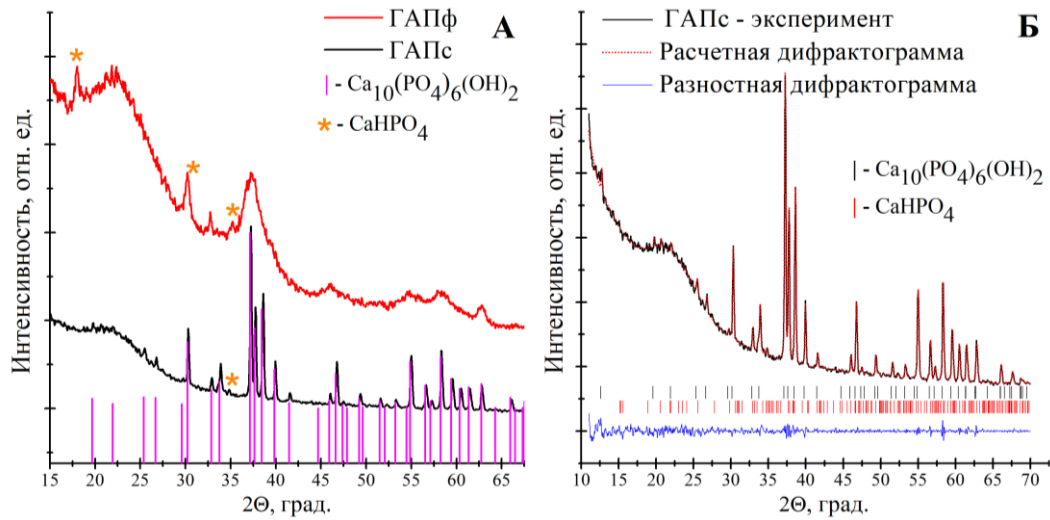


Рисунок 17. А) Данные рентгеновской дифракции образца гидроксиапатита ГАПс, полученного из суспензии оксида кальция и фосфорной кислоты и образца ГАПф, синтезированного из раствора глицерофосфата кальция в присутствии щелочной фосфатазы. Штрихдиаграмма соответствует положению рефлексов фазы $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, а * – рефлексам фазы CaHPO_4 . Б) Экспериментальная (черная), расчетная (красная) и разностная (синяя) дифрактограммы ГАПс. Штрихдиаграммы соответствует положению рефлексов гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (черная) и монетита CaHPO_4 (красная). Излучение: $\text{CoK}\alpha_1$, $\lambda=1.7903 \text{ \AA}$.

Таблица 5. Параметры элементарной ячейки образцов ГАПс, ГАПф и литературные данные для фазы $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [PDF-2: 72-1243]. Пространственная группа: $R\bar{6}_3/m$.

Параметры	ГАПс	ГАПф	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
$a, \text{ \AA}$	9.4208(5)	9.448(6)	9.432
$c, \text{ \AA}$	6.8832(4)	6.883(7)	6.881
$V, \text{ \AA}^3$	529.04(6)	532.2(7)	530.1

Таблица 6. Параметры элементарной ячейки образца ГАПс, ГАПф и литературные данные для фазы CaHPO_4 [PDF-2: 89-5969]. Пространственная группа: $P-1$.

Параметры	ГАПс	ГАПф	CaHPO_4
$a, \text{ \AA}$	6.910(1)	6.911(5)	6.90
$b, \text{ \AA}$	6.6413(6)	6.589(4)	6.65
$c, \text{ \AA}$	7.0218(6)	7.081(3)	7.00
α	96.514(7)	95.72(3)	96.4
β	103.696(9)	103.95(3)	103.9
γ	88.79(1)	88.16(4)	88.7
$V, \text{ \AA}^3$	311.06(3)	311.4(5)	309.8

Данные по КР-спектроскопии образца ГАПф, приведенные на рисунке 18 В, подтверждают получение гидроксиапатита во время синтеза. На спектре наблюдаются характерные для гидроксиапатита симметричные и антисимметричные моды группы PO_4^{3-} : 1046, 961, 590, 430 cm^{-1} соответственно [148,151]. При детальном рассмотрении наиболее интенсивного пика наблюдается суперпозиция линий: 951 и 961 cm^{-1} . Из литературы известно, что линия 951 cm^{-1} соответствует аморфному гидроксиапатиту [152].

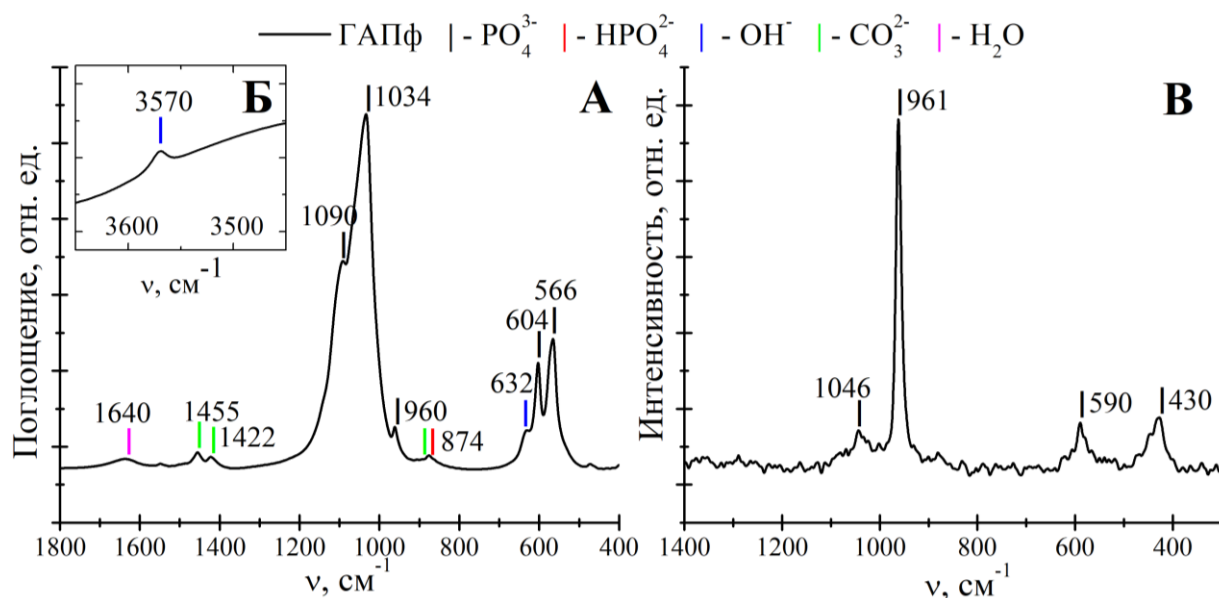


Рисунок 18. ИК-спектр образца гидроксиапатита ГАПф, синтезированного из раствора глицерофосфата кальция в присутствии щелочной фосфатазы в диапазонах от 400 до 1800 cm^{-1} (А) и от 3450 до 3650 cm^{-1} (Б). КР-спектр образца гидроксиапатита ГАПф в диапазонах от 300 до 1400 cm^{-1} (В). Штрихами одного цвета отмечены колебательные моды соответствующих групп.

На рисунке 19 представлена морфология частиц ГАПс и ГАПф по данным электронной микроскопии. При синтезе из суспензии CaO и H_3PO_4 получаются игольчатые кристаллы длиной порядка 200 нм и шириной около 50 нм. При ферментативном синтезе гидроксиапатита наблюдается образование сферических частиц со средним размером 2.7 мкм, обладающих развитой поверхностью, предположительно полых внутри. Сложную морфологию частиц ГАПф можно объяснить процессами перекристаллизации аморфных фосфатов кальция в ходе ферментативного синтеза. Более подробно данный процесс изложен в нашей статье [153].

Таким образом, в результате суспензионного синтеза гидроксиапатита получается высококристаллическая фаза $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ с соотношением Ca:P близким к стехиометрическому, которая сопровождается примесью фазы монетита CaHPO_4 . При реакции ферментативного гидролиза глицерофосфата кальция образуется менее закристаллизованный образец предположительного состава $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x} / \text{CaHPO}_4$. Подобные композиты с монетитом обладают рядом преимуществ для медицины по сравнению с материалом

из чистого гидроксиапатита. Так, известно, что резорбция монетита происходит быстрее, чем у ГАП [154], и монетит обладает остеокондуктивными свойствами [155]. Наличие карбоната кальция в образце делает такой композит биоподобным, поскольку карбонаты присутствуют и в биологическом апатите, получаемом из костей животных, в частности свиней, согласно литературным данным [150]. Несмотря на значительно больший размер частиц и агрегатов ферментативного ГАП, в предыдущих работах была продемонстрирована его более высокая сорбционная емкость по отношению к иттрию по сравнению с ГАП, полученным из суспензии [137,138]. Эта информация предопределила применение обоих подходов к синтезу гидроксиапатита в данной работе.

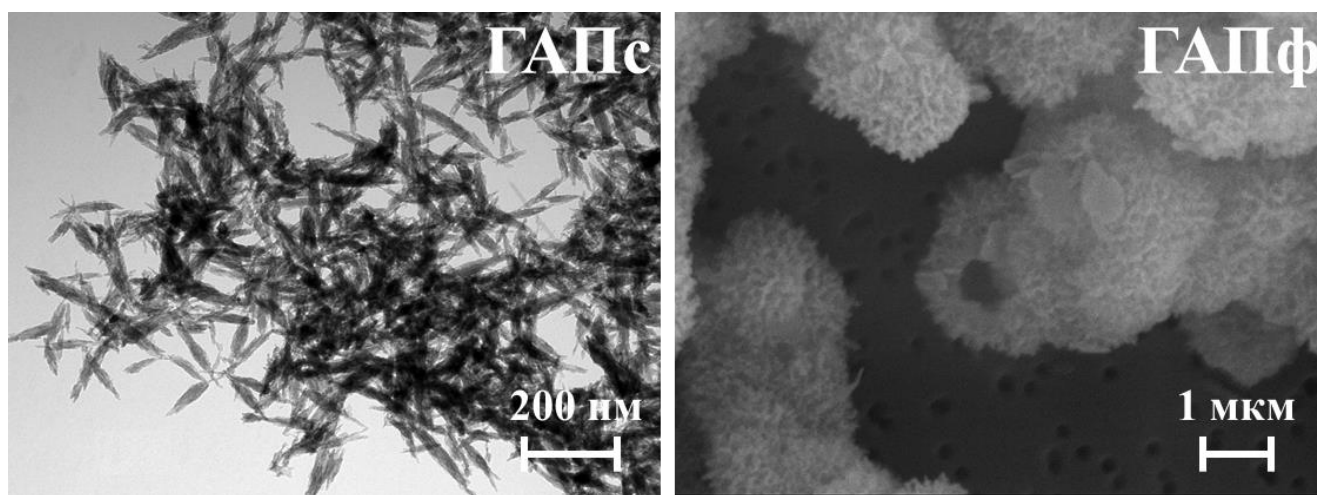


Рисунок 19. Данные трансмиссионной электронной микроскопии гидроксиапатита ГАПс, полученного из суспензии оксида кальция и фосфорной кислоты и растровой электронной микроскопии для образца ГАПф, синтезированного из раствора глицерофосфата кальция в присутствии щелочной фосфатазы.

3.3. Различные подходы к минерализации

Существует два принципиальных подхода к минерализации альгинатных сфер фосфатами кальция. Первый подход заключается в предварительном синтезе минеральной фазы с последующим ее добавлением к гидрогелю альгината. Второй подход подразумевает синтез минеральной фазы внутри альгинатных сфер в процессе или после их сшивки. Первый подход является более простым с синтетической точки зрения, однако второй вариант предполагает большее взаимодействие между полимерной сеткой альгинатного гидрогеля и формирующимися частицами фосфатов кальция, что влияет на свойства получаемых материалов. В данной главе рассматриваются альгинатные сферы, минерализованные разными способами:

- 1) добавление суспензии предварительно синтезированного ГАП к раствору альгината натрия с последующей сшивкой смеси [156];

- 2) осаждение частиц фосфатов кальция внутри альгинатных сфер, содержащих гидрофосфат аммония, в процессе их сшивки;
- 3) ферментативный синтез фосфатов кальция внутри готовых альгинатных сфер, содержащих фермент щелочную фосфатазу [153].

На рисунке 20 А представлена высушенная сфера альгината кальция минерализованная готовым ГАП, полученным из суспензии оксида кальция. Форма полученных образцов близка к сферической, при этом морфология поверхности сферы и ее среза указывает на гомогенность полученного материала. Для синтеза ГАП внутри сфер предварительно в раствор альгината натрия добавляли необходимое количество гидрофосфата аммония, и затем данный раствор прикапывали к раствору хлорида кальция. В случае щелочного $\text{pH} = 10$, при добавлении гидроксида аммония, на поверхности образца наблюдается образование частиц и гидроксиапатита со средним размером 1 мкм, при этом альгинатная сфера подвергается сильным искажениям (рисунок 20 В и Г). При нейтральном pH наблюдается образование неоднородной по структуре сферы, содержащей крупные пластинчатые кристаллы длиной до 300 мкм, шириной до 100 мкм и толщиной порядка 20 мкм (рисунок 20 Д и Е).

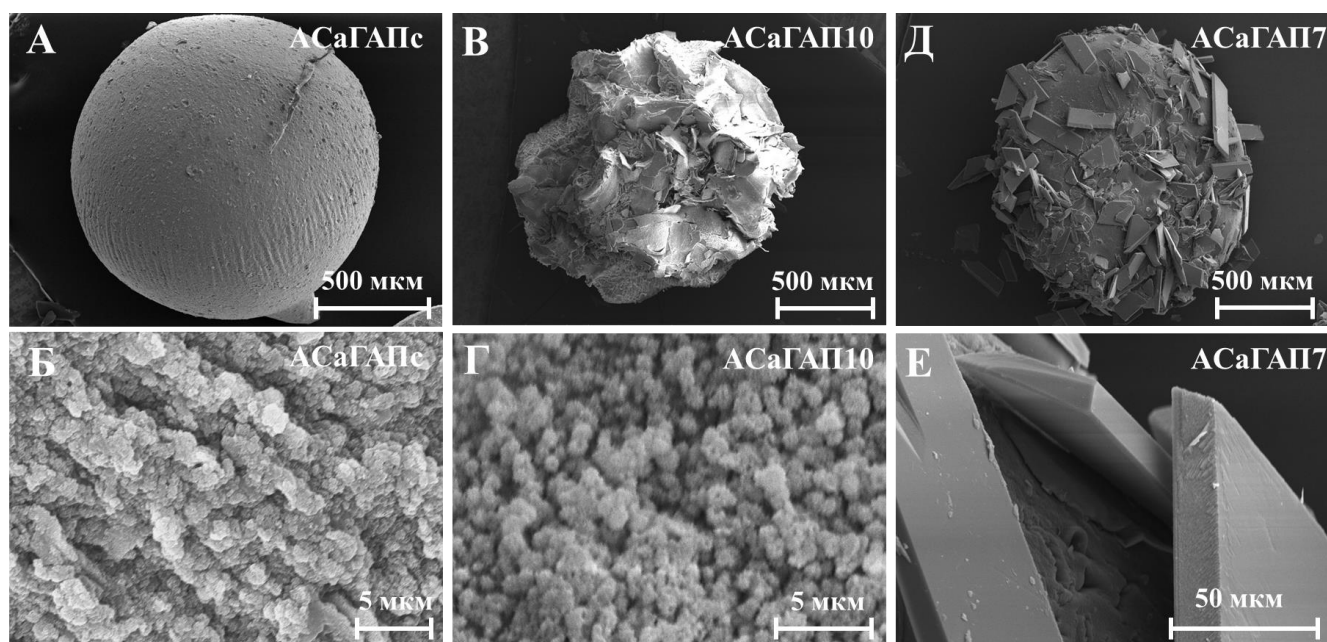


Рисунок 20. Общий вид сферы образца альгината кальция АСаГАПс, минерализованного предварительно синтезированным ГАП (А), и поверхность ее среза (Б) по данным растровой электронной микроскопии. Общий вид (В) и поверхность сферы (Г) образца альгината кальция АСаГАП10, минерализованного с помощью осаждения ГАП внутри сфер при $\text{pH} = 10$. Общий вид (Д) и поверхность сферы (Е) альгината кальция АСаГАП7, минерализованного с помощью осаждения ГАП внутри сфер при нейтральном pH .

Представленная на рисунке 21 дифрактограмма образца АСаГАПс свидетельствует о сохранении кристаллической фазы гидроксиапатита при минерализации альгинатных сфер готовым ГАП. При осаждении внутри альгинатного гидрогеля в процессе его сшивки в условиях $\text{pH} = 10$ получается фаза гидроксиапатита с низкой степенью кристалличности (рисунок 21, образец АСаГАП10), которая предположительно сопровождается аморфными фазами других фосфатов кальция, что хорошо согласуется с нетипичной для кристаллического ГАП сферической морфологией частиц (рисунок 20 Г). При понижении pH синтеза до нейтрального наблюдается образование высококристаллической фазы брусита $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (рисунок 21, образец АСаГАП7), что объясняет образование пластинчатых кристаллов, представленных на рисунке 20 Е.

При синтезе композитов ферментативной минерализацией альгината готовые гидрогелевые сферы с иммобилизованной щелочной фосфатазой помещали в раствор глицерофосфата кальция с концентрацией 0.02 моль/л и оставляли до формирования твердой фазы осадка. Наблюдалось образование осадка как внутри геля, так и в растворе, что связано с выходом щелочной фосфатазы из геля в раствор во время синтеза. При этом форма альгинатных сфер не претерпевала заметных изменений, которые наблюдались в случае осаждения фосфатов внутри сфер (рисунок 20 В и Д). Микрофотография частиц фосфатов кальция, сформировавшихся над альгинатными сферами приведена на рисунке 22 А. Частицы осадка обладают сферической формой, как и в случае фосфатов, синтезированных в растворе. Средний размер частиц составляют 0.9 мкм, что заметно ниже, чем размер частиц, образующихся при ферментативном синтезе в водном растворе (рисунок 19). Это связано с низкой концентрацией фермента в растворе, которая обусловлена разбавлением при его выходе из гидрогеля.

На рисунке 22 Б приведены микрофотографии фосфата кальция, полученного гидролизом раствора глицерофосфата кальция внутри альгинатного гидрогеля. Форма полученных частиц близка к сферической с ярко выраженным рельефом поверхности. Как и в случае фосфатов кальция, синтезированных из растворов (рисунок 19, образец ГАПф), можно найти частицы с крупными полостями, что также может указывать на начало перекристаллизации аморфных фосфатов кальция в нанокристаллический гидроксиапатит. Средний размер частиц составляет 1.7 мкм. Видно, что полученные частицы существенно меньше, чем синтезированные в растворе. Это может объясняться ограниченным объемом порового пространства гидрогеля, которое накладывает ограничение на рост частиц. Стоит отметить и неоднородность ферментативной минерализации, особенно на поверхности сфер, где присутствуют как скопления сферических частиц, так и участки непокрытые ими (рисунок 22 В). Исследование образцов ферментативно минерализованных альгинатных сфер методами рентгеновской дифракции не показали наличие

закристаллизованной фазы в образцах, что также свидетельствует о замедлении процессов роста частиц в гидрогеле.

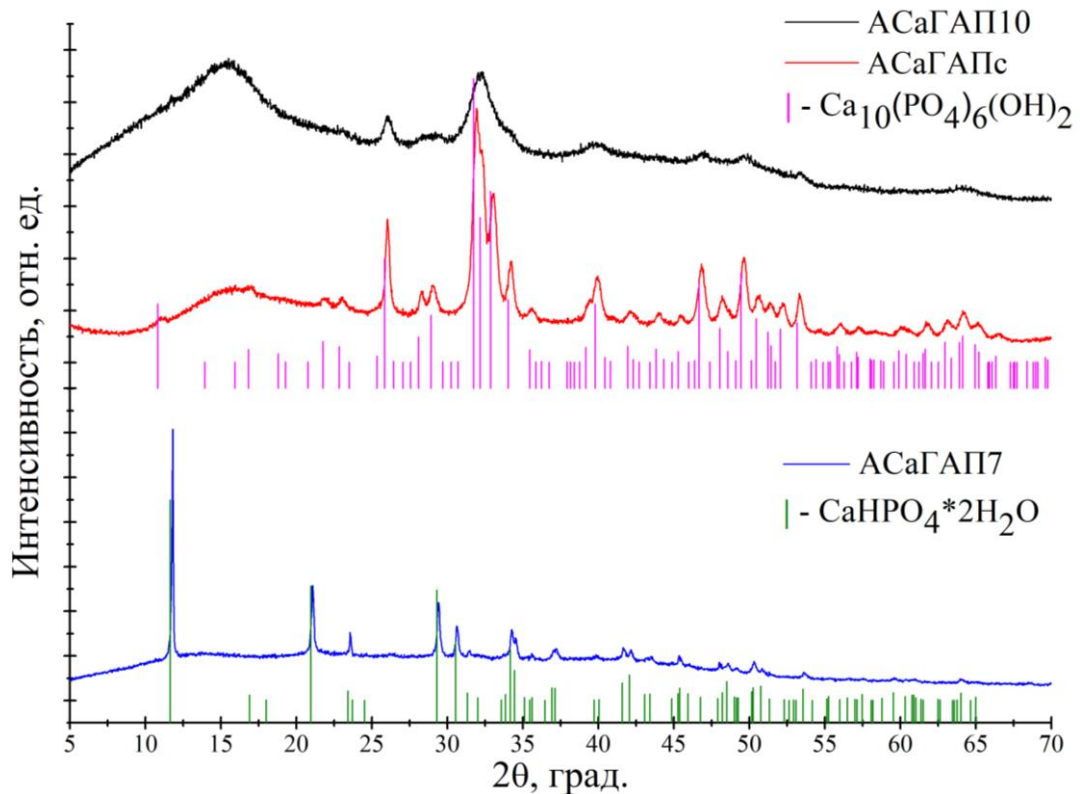


Рисунок 21. Данные рентгеновской дифракции для композитов альгината кальция и гидроксиапатита. Для образца ACaGAPc осуществлен предварительный синтез ГАП в суспензии оксида кальция. Образцы ACaGAP10, ACaGAP7 минерализованы синтезом фосфатов кальция внутри сшивающийся альгинатной сферы сферы при pH = 10 и нейтральном pH соответственно. Штрихдиаграмма соответствует положению рефлексов гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (фиолетовая) и брушита $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (зеленая). Излучение: $\text{CuK}\alpha_1$, $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$.

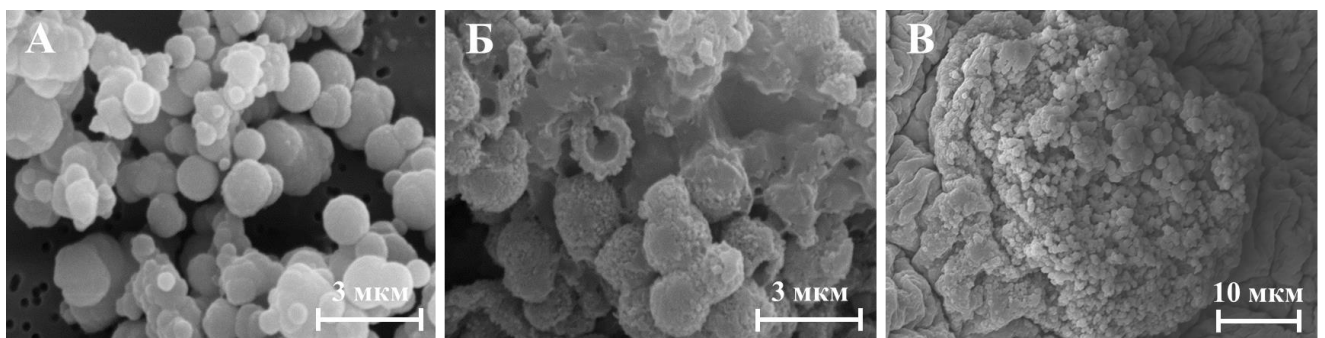


Рисунок 22. Микрофотографии частиц ГАП, полученные ферментативным синтезом над сферами альгината кальция (А), внутри (Б) и на поверхности (В) сфер альгината кальция по данным растровой электронной микроскопии.

Для ферментативной минерализации альгинатных сфер необходимо, чтобы фермент щелочная фосфатаза, катализирующий реакцию образования гидроксиапатита, находился в полимерной сетке альгината. Щелочная фосфатаза может диффундировать из сфер в ходе синтеза и терять свою каталитическую активность, например вследствие ингибирования. В ходе работы был исследован выход щелочной фосфатазы из кальциевых (АСа-ЩФ) и иттриевых (АУ-ЩФ) сфер радиометрически по тритиевой метке. Результаты, представленные на рисунке 23 А, показывают, что за трое суток из кальциевых сфер выходит порядка 75% фермента, а из иттриевых 60%, что можно объяснить более плотной структурой гидрогеля альгината иттрия, препятствующей диффузии фермента. Таким образом, больше фермента остается внутри иттриевых сфер, что должно способствовать минерализации.

Каталитическая активность фермента при выходе из сфер заметно снижается, по сравнению с ее уровнем до проведения синтеза, что, вероятно, связано с ингибированием щелочной фосфатазы в реакционной среде (рисунок 23 Б). Проведенные исследования поведения щелочной фосфатазы в различных средах подтверждают заметное снижение активности щелочной фосфатазы в растворах альгината натрия и Ca^{2+} , при этом ингибирование в случае Y^{3+} незначительно (таблица 7).

Таким образом, в альгинате иттрия при ферментативной минерализации потенциально должно образовываться большее количество фосфатов, по сравнению с альгинатом кальция, за счет удерживания большего количества фермента и его меньшего ингибирования. Стоит отметить, что активность фермента щелочная фосфатаза зависит от pH раствора, имеет оптимум при 9 – 10 pH и заметно падает при подкислении раствора [157]. В результате ферментативная минерализация в присутствии щелочной фосфатазы применима к нейтральным и щелочным водным средам с $\text{pH} \geq 6$. Поэтому для альгинатов железа, синтез которых происходит в сильно кислой среде с pH около 1, вариант ферментативной минерализации не представляется возможным.

Рассмотренные в разделе подходы к минерализации альгинатных сфер фосфатами кальция приводят к получению образцов различного состава и морфологии, что должно напрямую повлиять на их потенциальные свойства носителей радионуклидов. Минерализация с помощью готового нанокристаллического ГАП позволяет получать композиты с большим содержанием минеральной фазы и ее равномерным распределением, а в случае ферментативной минерализации геля образуются отдельные микрометровые частицы с развитой поверхностью, которые за счет своего состава также обладают повышенной биоразлагаемостью (раздел 3.2). Было принято решение в дальнейших исследованиях отказаться от минерализации за счет осаждения частиц фосфатов во время шивки сфер, поскольку это приводило к сильным и невоспроизводимым искажениям формы образцов и избыточной гетерогенности композита.

Особенности минерализации должны оказать влияние на стабильность композитов в различных средах, а также на процессы мечения сфер радионуклидами за счет разной доступности минеральной фазы в ходе сорбции и изотопного обмена. Данные эффекты будут рассмотрены в разделах 3.5 - 3.7.

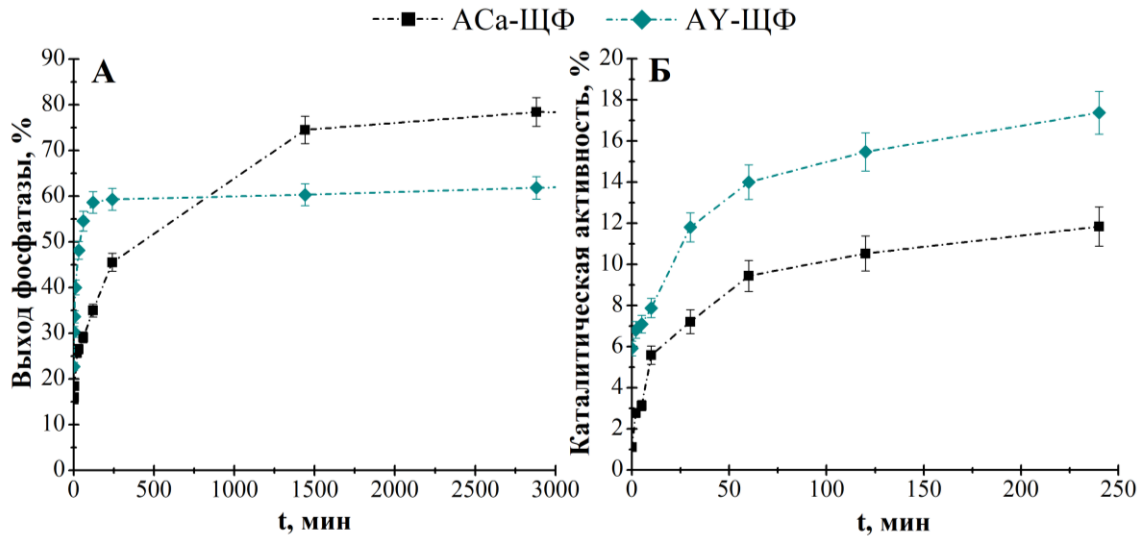


Рисунок 23. А) Кинетика выхода меченой тритием щелочной фосфатазы из кальциевых АСа-ЩФ и иттриевых АУ-ЩФ сфер в ходе их синтеза при $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в процентах от введенного количества фосфатазы по данным ЖСС. Б) Изменение каталитической активности фосфатазы в растворе над сферами АСа-ЩФ и АУ-ЩФ в процентах от введенной в сферы каталитической активности.

Таблица 7. Каталитическая активность фермента щелочной фосфатазы после выдержки в различных водных растворах в течении 4 часов.

Раствор	Альгинат Na	Альгинат Na	CaCl ₂	CaCl ₂	Y(NO ₃) ₃	Y(NO ₃) ₃
Концентрация	50 г/л	30 г/л	0.2 М	1 М	0.2 М	1 М
Каталитическая активность	60 ± 5%	57 ± 5%	51 ± 3%	10 ± 4%	96 ± 2%	88 ± 2%

3.4. Синтез альгинатных сфер кальция, иттрия и железа

В результате сшивания альгината катионами Ca^{2+} , Y^{3+} и Fe^{3+} были получены образцы АСа и АУ, АFe соответственно. На рисунке 24 А-Г представлены оптические фотографии полученных сфер альгината кальция и иттрия, а на рисунке 25 А и Б альгината железа во влажном состоянии и после высушивания. Форма кальциевых сфер шарообразная, иттриевые и железные сферы более сплюснутые. Это может быть обусловлено разной скоростью сшивания альгината на начальном этапе данного процесса в растворах двухзарядного катиона Ca^{2+} и трехзарядных катионов Y^{3+} и Fe^{3+} . В случае Ca^{2+} сшивка на границе раздела водный раствор – альгинат происходит быстрее, и получаемая частица по форме повторяет падающую во время синтеза каплю альгината. Стоит отметить, что формообразование сложный процесс, и на него также влияют такие параметры, как плотность и вязкость материала капли и скорость ее погружения [158]. В таблице 8 представлены средние радиусы получаемых сфер для образцов АСа, АУ и АFe. Видно, что радиус иттриевых и кальциевых сфер (образцы АСа и АУ) практически не отличается и составляет порядка 1.3 - 1.4 мм во влажном состоянии, а у сфер альгината железа АFe он возрастает до 1.6 мм.

В водном сшивающем растворе Fe^{3+} происходит гидролиз с осаждением различных гидроксоформ железа. Для подавления гидролиза к сшивателю добавляли соляную кислоту, в результате чего раствор приобретал желтую окраску, связанную с образованием хлоридного комплекса железа $[\text{FeCl}_4]^-$. При сшивании альгината раствором хлоридного комплекса железа были получены альгинатные сферы АFeCl, характеризующиеся более плоской формой и радиусом, увеличенным до 1.8 мм (рисунок 25 В и Г). При высушивании сферы АСа сохраняют сферическую морфологию, и их радиус уменьшается до 0.45 мм. Сферы, сшитые иттрием АУ и железом АFe и АFeCl становятся более плоскими, а их радиус заметно уменьшается до порядка 0.5 и 0.6 мм соответственно (таблица 8).

При ферментативной минерализации альгинатных сфер, содержащих кальций и итрий, были получены образцы АСаГАПф и АУГАПф соответственно (рисунок 24 Д-З). Средний радиус минерализованных таким способом сфер возрастает на 20–30%. С помощью включения в альгинатную матрицу готового суспензионного гидроксиапатита ГАПс с последующей сшивкой в растворе $\text{Y}(\text{NO}_3)_3$ были получены сферы АУГАПс характеризующиеся сферической формой и на 40% меньшим радиусом, по сравнению с АУГАПф (рисунок 24 И, К). Это связано с низким, по сравнению с другими альгинатными сферами, содержанием воды (74%), что косвенно свидетельствует об образовании более плотной и жесткой структуры меньше подверженной набуханию. На 43% возросшая масса высушенных сфер АУГАПс, по сравнению с АУГАПф, также свидетельствует об образовании материала большей плотности и подтверждает успешное включение большого количества частиц ГАПс в гидрогель (таблица 8).

В результате синтезов сфер с добавлением ГАПс в водном растворе FeCl_3 был получен образец АFeГАПс1 (рисунок 25 Д, Е). Форма сфер АFeГАПс1 близка к сферической. Радиус составляет 1.5 ± 0.1 мм. Ввиду низкого $\text{pH} \approx 1$ для сшивающего раствора FeCl_3 можно ожидать частичное растворение фазы гидроксиапатита и вымывание фосфатных групп из альгинатного гидрогеля в раствор. Для предотвращения данного процесса pH среды был повышен до 4.3 путем приготовления раствора FeCl_3 в ацетатном буфере. Темно-красный цвет полученного раствора объясняется образованием ацетатного комплекса трехвалентного железа с катионом типа $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ [159]. При попадании капль альгината с гидроксиапатитом в такой раствор сферическая форма капли искажалась вследствие более медленной сшивки. В результате были получены чашеобразные гранулы АFeГАПс2 с максимальным радиусом 1.8 ± 0.2 мм и радиусом углубления 1.4 ± 0.1 мм (рисунок 25 Ж, З).

При высушивании сфер АFeГАПс1 и АFeГАПс2 также наблюдалось заметное уменьшение их радиуса (таблица 8). Для образцов АFeГАПс1 и АFeГАПс2 наблюдается увеличение массы сухого материала, по сравнению с АFe, что объясняется введением дополнительной фазы фосфатов в гидрогель. Содержание несвязанной воды в альгинатных сферах варьируется от 95% для неминерализованных сфер до 92% для минерализованных альгинатов железа (АFeГАПс2) и до 75% для минерализованного альгината иттрия (АУГАПс).

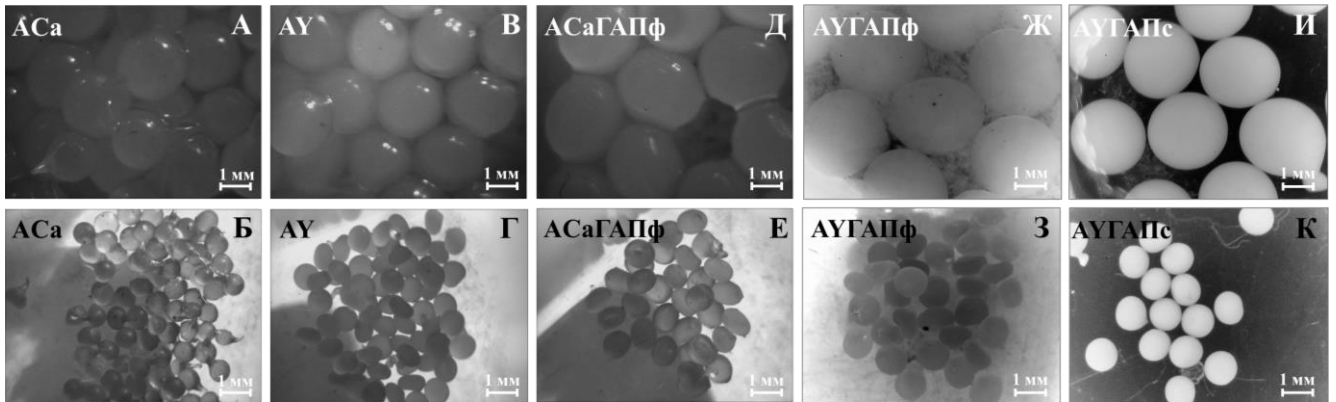


Рисунок 24. Оптические микрофотографии альгинатных сфер различного состава во влажном (А, В, Д, Ж) и воздушно сухом состоянии (Б, Г, Е, З): А, Б) – альгинат кальция АСа; В, Г) – альгинат иттрия АУ; Д, Е) – альгинат кальция ферментативно минерализованный АСаГАПф; Ж, З) – альгинат иттрия ферментативно минерализованный АУГАПф; И, К) – альгинат иттрия минерализованный суспензией АУГАПс.

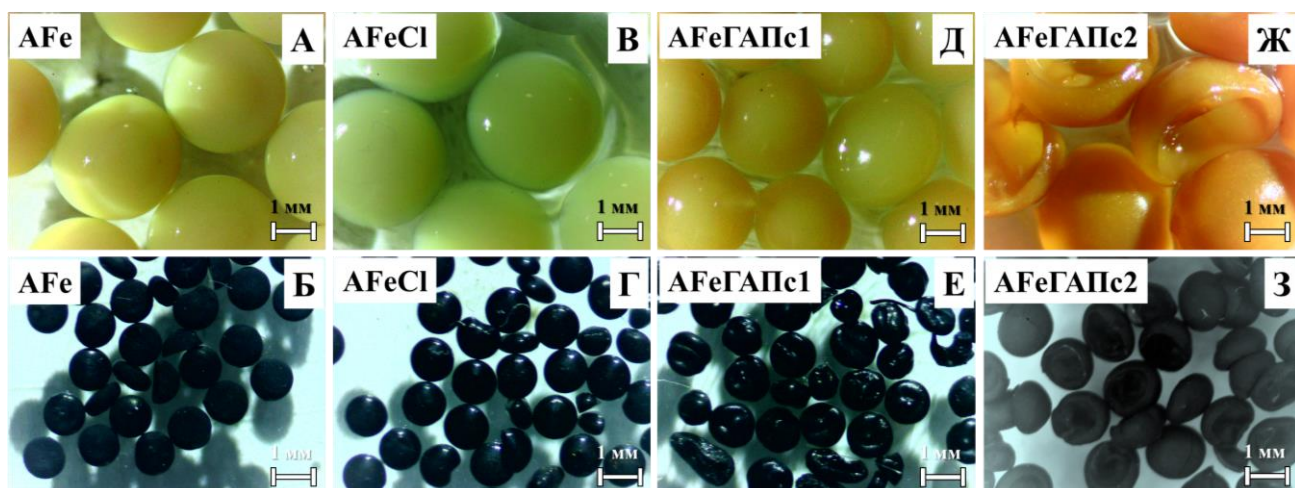


Рисунок 25. Оптические микрофотографии сфер альгината железа различного состава во влажном (А, В, Д, Ж) и воздушно сухом состоянии (Б, Г, Е, З): А, Б) сферы АFe, полученные при сшивании альгината в растворе FeCl_3 ; В, Г) сферы АFeCl, полученные при сшивании альгината в растворе хлоридного комплекса Fe^{3+} ; Д, Е) сферы АFeГАПс1, полученные при сшивании гидрогеля, содержащего суспензию ГАП, в растворе FeCl_3 ; Ж, З) сферы АFeГАПс2, полученные при сшивании гидрогеля, содержащего суспензию ГАП, в растворе ацетатного комплекса Fe^{3+} .

Таблица 8. Средние радиусы сфер R (мм) во влажном и высушенном состоянии, измеренные по данным оптической микроскопии при $T = 20$ °С.

Образец	R влажных, мм	R сухих, мм	M влажных, мг	M сухих, мг
АСа	1.31 ± 0.08	0.45 ± 0.03	14.70 ± 0.05	0.61 ± 0.05
АУ	1.37 ± 0.09	0.51 ± 0.03	17.14 ± 0.05	0.79 ± 0.05
АFe	1.6 ± 0.1	0.56 ± 0.01	15.50 ± 0.05	0.70 ± 0.05
АFeCl	1.8 ± 0.1	0.60 ± 0.02	15.0 ± 0.05	1.01 ± 0.05
АСаГАПф	1.63 ± 0.06	0.59 ± 0.04	15.40 ± 0.05	0.70 ± 0.05
АУГАПф	1.67 ± 0.07	0.63 ± 0.03	17.42 ± 0.05	0.90 ± 0.05
АУГАПс	1.00 ± 0.02	0.42 ± 0.01	10.25 ± 0.05	1.58 ± 0.05
АFeГАПс1	1.5 ± 0.1	0.57 ± 0.05	14.2 ± 0.05	1.10 ± 0.05
АFeГАПс2 сфера	1.8 ± 0.2	0.71 ± 0.05	18.2 ± 0.05	1.30 ± 0.05
углубление	1.4 ± 0.1	0.48 ± 0.05		

При исследовании поверхности сфер во влажном состоянии (образец АСа) методом электронной микроскопии была обнаружена волокнистая структура с шириной волокон около 5 мкм, а также отверстия диаметром порядка 10 мкм (рисунок 26). В процессе высушивания происходит слипание волокон и закупорка пор, что хорошо видно на микрофотографиях поверхности высушенных альгинатных сфер (рисунок 27). Поверхность высушенных

кальциевых сфер АСа более гладкая, а поверхность высушенных иттриевых сфер АУ более развитая.

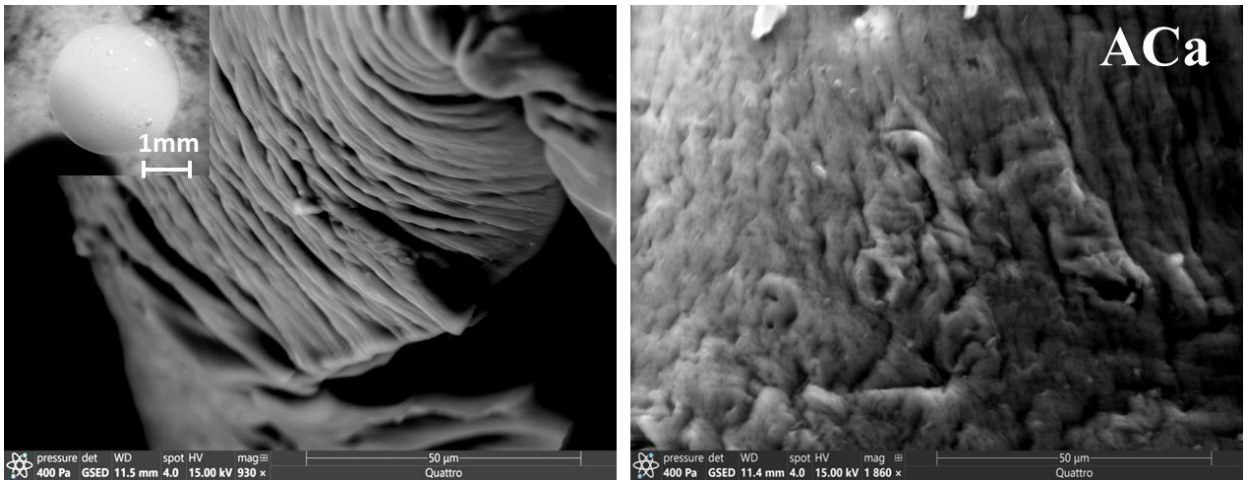


Рисунок 26. Микрофотографии поверхности влажных сфер АСа по данным растровой электронной микроскопии в режиме низкого вакуума.

При ферментативной минерализации сфер тенденция сохраняется: поверхность сфер АСаГАПф достаточно гладкая и содержит отдельные скопления частиц минеральной фазы, а поверхность сферы АУГАПф более развитая и равномерно покрытая частицами фосфатов (рисунок 27 З и Л соответственно). На рисунке 27 И и М также представлены данные элементного картирования РСМА по фосфору для высушенных минерализованных альгинатных сфер кальция и иттрия, которые подтверждают неравномерность минерализации кальциевых сфер и более равномерное распределение минеральной фазы по поверхности иттриевых сфер.

Электронная микроскопия образца АУГАПс, приведенная на рисунке 28, демонстрирует сохранение сферической формы при высыхании и равномерное покрытие как поверхности (рисунок 28 Б), так и среза (рисунок 28 Е) сферы частицами минеральной фазы. Равномерное распределение частиц ГАПс подтверждают и данные элементного картирования РСМА по фосфору (рисунок 28 Д).

На рисунке 29 представлены электронные микрофотографии сфер альгината железа в высушенном состоянии. Поверхность сфер АFe, АFeCl и АFeГАПс1 более гладкая и плотная, чем поверхность срезов, что свидетельствует о неоднородной макроструктуре сфер и подтверждает сформулированное в разделе 3.1 предположение о мягком ядре и плотной оболочке. Наиболее развитую поверхность имеют сферы АFe и АFeГАПс2, причем АFeГАПс2 имеют заметно более развитую поверхность со стороны углубления, в то время как задняя стенка по своей морфологии напоминает поверхности других сфер. Результаты РСМА картирования по кальцию, иттрию и железу демонстрируют равномерное распределение данных элементов по поверхности каждого из типов сфер.

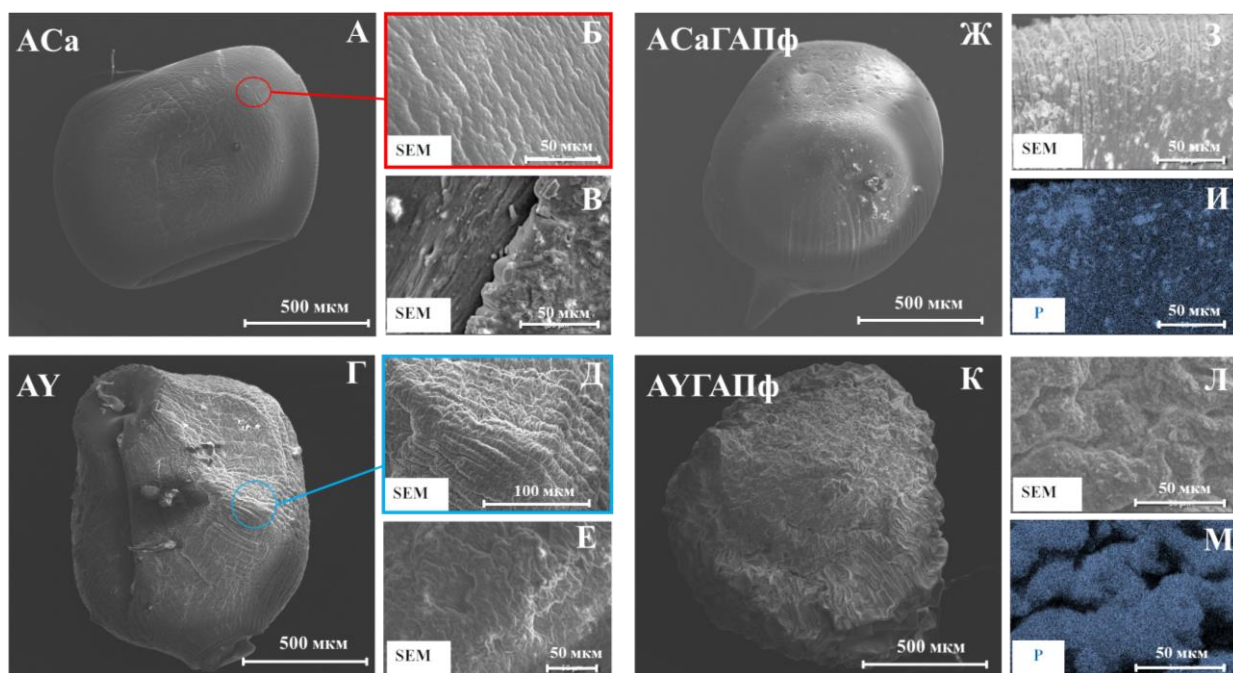


Рисунок 27. Результаты растровой электронной микроскопии и данные элементного картирования РСМА для альгинатных сфер различного состава. А-В) Сфера альгината кальция АСа (А – общий вид, Б – поверхность, В – срез). Г-Е) Сфера альгината иттрия АУ (Г – общий вид, Д – поверхность, Е – срез). Ж-И) Ферментативно минерализованная сфера альгината кальция АСаГАПф (Ж – общий вид, З – поверхность, И – картирование поверхности по фосфору). К-М) Ферментативно минерализованная сфера альгината иттрия АУГАПф (К – общий вид, Л – поверхность, М – картирование поверхности по фосфору).

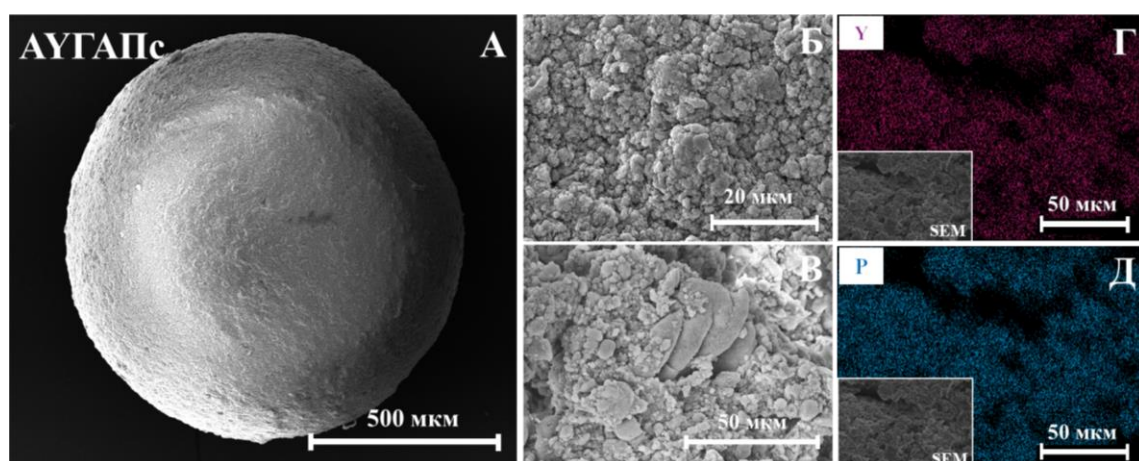


Рисунок 28. Результаты растровой электронной микроскопии и данные элементного картирования РСМА для минерализованной суспензией альгинатной сферы АУГАПс. А – общий вид, Б – поверхность, В – срез. Г-Д – элементное картирование поверхности по иттрию и фосфору соответственно.

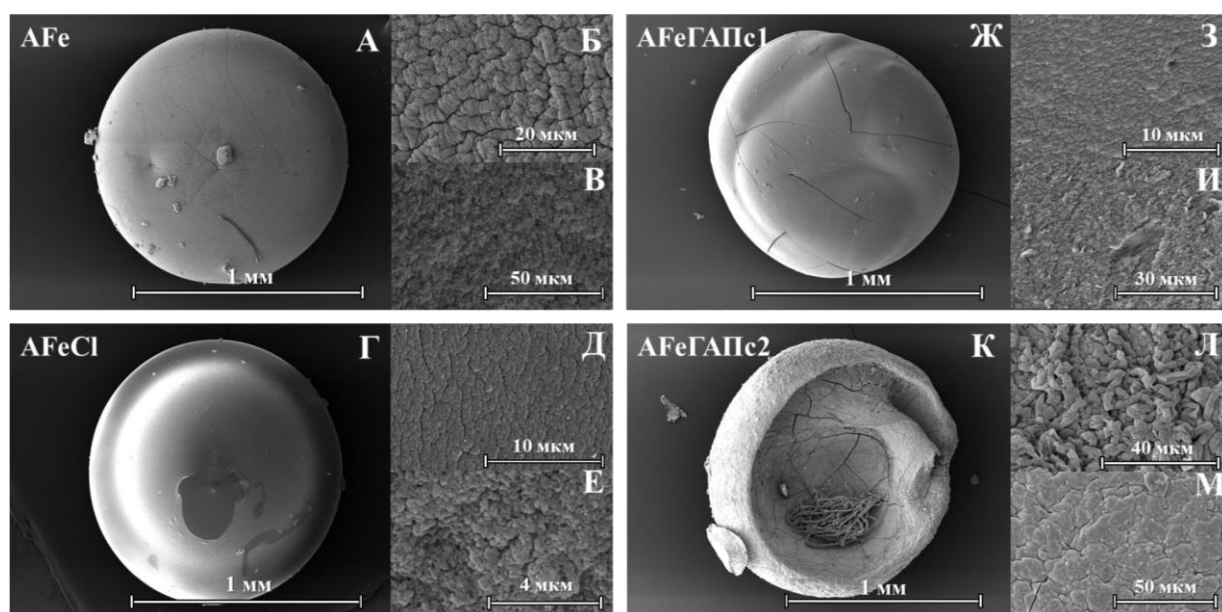


Рисунок 29. Результаты растровой электронной микроскопии для сфер альгината железа различного состава. А-В) Сфера альгината железа AFe (А – общий вид, Б – поверхность, В – срез). Г-Е) Сфера альгината железа AFeCl полученная при сшивании в растворе хлоридного комплекса (Г – общий вид, Д – поверхность, Е – срез). Ж-И) Минерализованная сфера альгината железа AFeГАПс1 (Ж – общий вид, З – поверхность, И – срез). К-М) Минерализованная сфера альгината железа, полученная при сшивании в растворе ацетатного комплекса AFeГАПс2 (К – общий вид, Л – поверхность углубления, М – поверхность задней стенки).

Спектры РСМА, приведенные на рисунке 30 А, подтверждают, что ферментативная минерализация иттриевых сфер происходит более полно, по сравнению с кальциевыми. Это демонстрируют и результаты спектрофотометрии растворенных образцов альгинатных сфер. В случае сфер АУГАПф на 1 сферу приходится на 40% больше фосфора, чем на 1 сферу АСаГАПф (таблица 9). Видно, что минерализация практически вдвое увеличивает содержание кальция в кальциевых альгинатных сферах (АСа и АСаГАПф) и создает заметное его количество в иттриевых сферах (АУ и АУГАПф), что должно увеличить число мест связывания иттрия и улучшить сорбционные свойства материалов. Такая разница в минерализации кальциевых и иттриевых сфер хорошо согласуется с приведенными в разделе 3.3 данными о лучшем удерживании фосфатазы внутри иттриевых сфер и меньшем ее ингибировании в среде Y^{3+} , по сравнению с Ca^{2+} . РСМА спектры поверхности сфер АУГАПс в целом являются идентичными образцу АУГАПф.

Согласно РСМА спектрам, представленным на рисунке 30 Б, в образцах AFeГАПс1 и AFeГАПс2 наблюдается заметное содержание фосфора на поверхности, при этом кальций содержится в значительном количестве только на поверхности образцов AFeГАПс2. Спектры, измеренные на поверхности среза сфер, демонстрируют увеличение количества фосфора и

кальция для образцов АFeГАПс2, в то время как на спектре образца АFeГАПс1 присутствуют только пики фосфора. Это можно объяснить различным рН сшивающих растворов. В случае АFeГАПс1 при рН = 1 гидроксиапатит практически полностью растворяется, а в АFeГАПс2 в растворе ацетатного комплекса железа с рН = 4.3 происходит частичное сохранение фазы гидроксиапатита. При растворении фазы кальций вымывается из сфер, а фосфат-ионы, по всей видимости, сорбируются на альгинате железа за счет связывания с Fe^{3+} . При синтезе сфер АFeГАПс1 этот процесс прошел по всему объему сферы, поэтому соотношение Са:Р в центре сферы и на поверхности не отличается и составляет 0.03 ± 0.02 . В сферах АFeГАПс2 на срезе наблюдается увеличение соотношения Са:Р до 0.8 ± 0.1 (на поверхности 0.2 ± 0.1), что говорит о не полном растворении фазы гидроксиапатита в центре сферы. Таким образом, благодаря процессам связывания, часть фосфора остается в материале, и наблюдается отклонение от стехиометрии соотношения Са:Р.

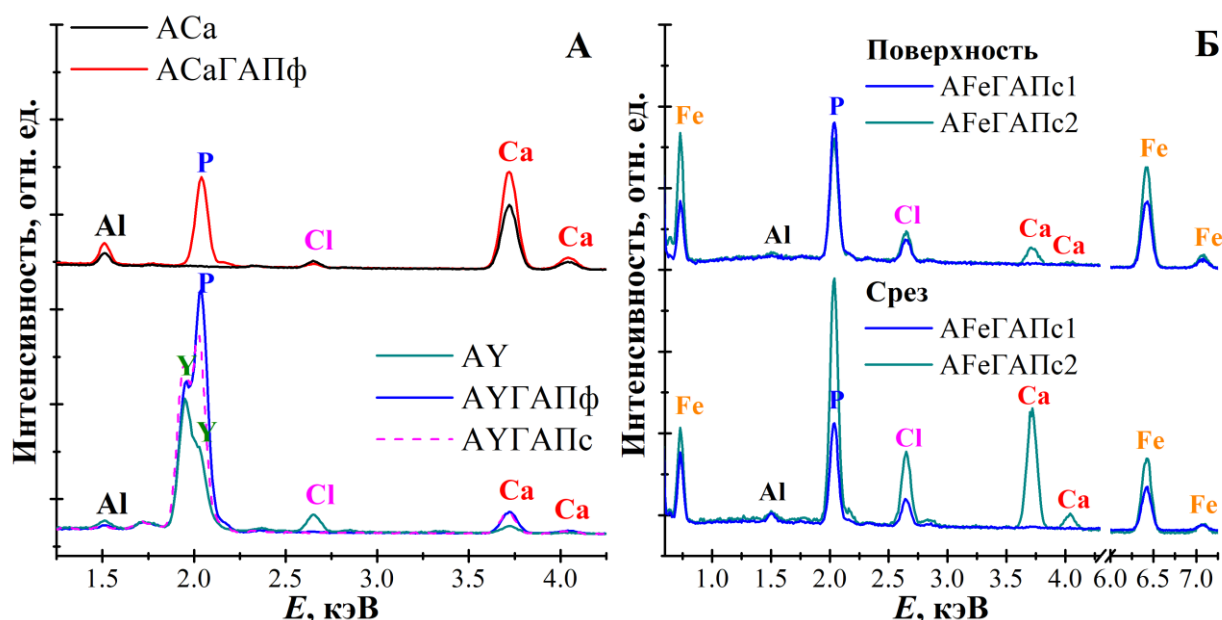


Рисунок 30. А) Усредненные по поверхности спектры РСМА образцов альгината кальция и иттрия: АСа, АУ, АСаГАПф, АУГАПф и АУГАПс. Б) Усредненные по поверхности сферы и среза спектры РСМА минерализованных образцов альгината железа: АFeГАПс1 и АFeГАПс2.

На рисунке 31 представлены дифрактограммы фосфорсодержащих сфер АУГАПс, АFeГАПс1 и АFeГАПс2, полученных при использовании суспензии ГАПс. Данные рентгеновской дифракции образцов этих сфер хорошо согласуются с данными РСМА. У образца АFeГАПс1 полностью аморфная фаза, что подтверждает наше предположение о растворении гидроксиапатита в ходе синтеза. На дифрактограммах АУГАПс и АFeГАПс2 присутствуют рефлексы, характерные для гидроксиапатита. Тем не менее фазы гидроксиапатита заметно аморфизированы, по сравнению с исходным образцом ГАПс. Это свидетельствует о процессах растворения кристаллов гидроксиапатита в случае железного образца и сорбции иттрия на ГАПс

из раствора шивателя для иттриевого образца. Стоит отметить, что, судя по данным РСМА, состав сферы АFeГАПс2 сильно отличается на поверхности и в объеме сферы, поэтому на данной дифрактограмме мы видим усредненную по образцу картину. Можно предположить, что кристалличность минеральных включений гидроксиапатита будет расти к центру сфер АFeГАПс2 вместе с ростом параметра Ca:P.

Таблица 9. Среднее содержание кальция, иттрия и фосфора в 1 сфере по данным спектрофотометрии растворенных образцов.

Образец	Средний элементный состав в одной сфере, мкг
АСа	Са: 55 ± 2
АУ	У: 63 ± 1
АFe	Fe: 40 ± 3
АFeCl	Fe: 37 ± 3
АСаГАПф	Са: 98 ± 3 ; P: 28 ± 2
АУГАПф	У: 57 ± 2 ; Са: 67 ± 3 ; P: 39 ± 2
АУГАПс	У: 121 ± 4 ; Са: 131 ± 4 ; P: 129 ± 3
АFeГАПс1	Fe: 28 ± 3 ; Са: 3 ± 2 ; P: 103 ± 3
АFeГАПс2	Fe: 26 ± 3 ; Са: 72 ± 3 ; P: 120 ± 3

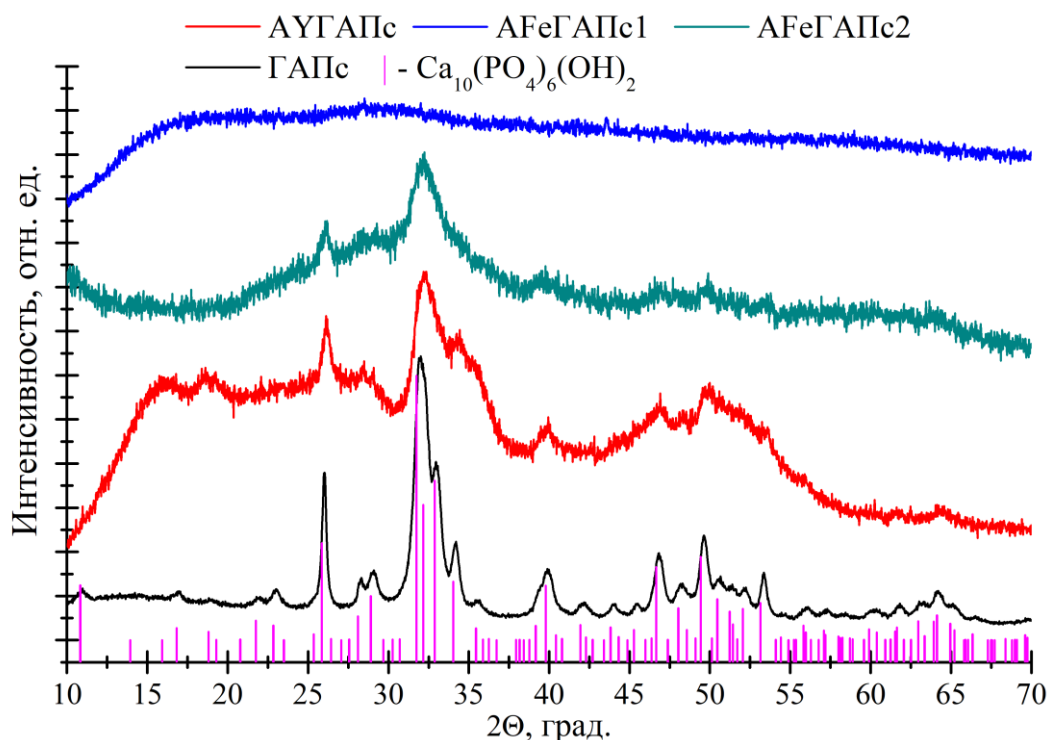


Рисунок 31. Дифрактограммы гидроксиапатита ГАПс и образцов сфер, полученных при шивании альгинатного гидрогеля, содержащего суспензию ГАПс, в растворе нитрата иттрия (АУГАПс), хлорида железа (АFeГАПс1) и ацетатного комплекса железа (АFeГАПс2). Штрих-диаграмма соответствует положению рефлексов $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

При ферментативной минерализации кальциевых и иттриевых сфер согласно рентгеновской дифракции не образуется достаточно закристаллизованных фосфатов кальция внутри сфер. Однако в случае иттриевых сфер при минерализации наблюдается образование достаточно большого количества осадка в маточном растворе, по анализу которого можно предположить состав минеральной фазы. Рентгеновская дифракция показала аморфность данного осадка, поэтому он был исследован с помощью ИК спектроскопии. На рисунке 32 представлены спектры образцов ферментативного гидроксиапатита ГАПф и частиц, выпавших в раствор при ферментативной минерализации альгината иттрия ГАПф/У. На спектре образца ГАПф/У присутствуют характерные для гидроксиапатита валентные и деформационные колебания PO_4^{3-} групп: 1092, 1035, 604, 566 cm^{-1} , и -ОН групп: 3570 cm^{-1} и 632 cm^{-1} [148]. Также присутствует колебательная мода при 874 cm^{-1} , которая относится к группе HPO_4^{2-} и указывает на образование именно кальций дефицитной фазы гидроксиапатита $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ [153]. ИК-спектр ГАПф/У также демонстрирует новые моды колебаний, соответствующие группам PO_4^{3-} в YPO_4 : 1076, 1018, 643, 542 cm^{-1} согласно литературными данными [160,161]. Часть нитрата иттрия после шивки и отмывания сфер, вероятно, остается в поровом пространстве сфер и затем участвует в осаждении глицерофосфата с образованием фазы YPO_4 .

Таким образом, для минерализованных кальциевых сфер АСаГАПф можно предположить следующий состав минеральной фазы: $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$, а для иттриевых сфер АУГАПф: $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}/\text{YPO}_4$. Наличие фазы YPO_4 должно несколько снизить сорбционные свойства сфер АУГАПф по отношению к иттрию, однако с другой стороны повысить число активных центров для изотопного обмена $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$.

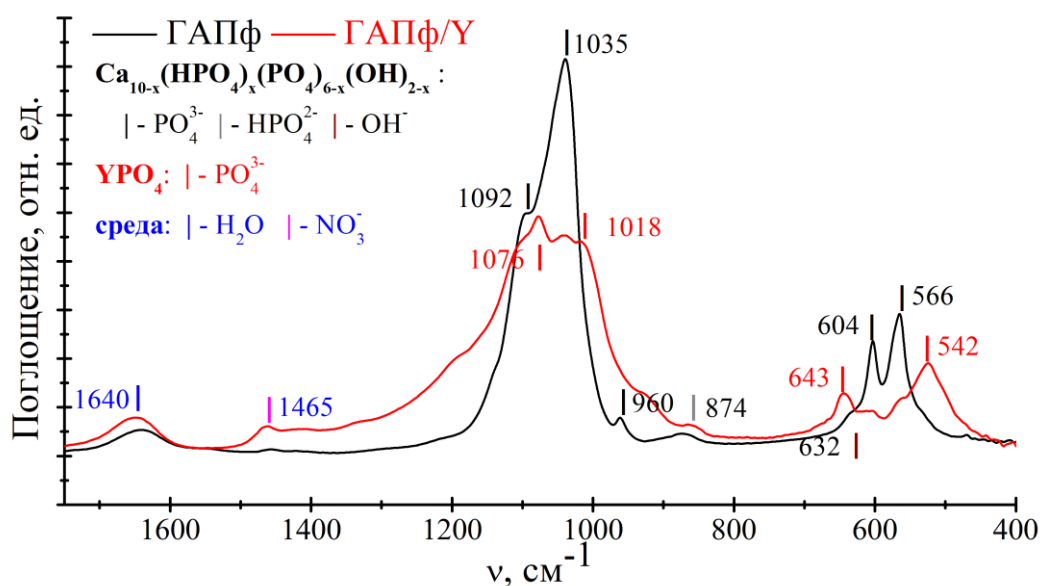


Рисунок 32. ИК спектроскопия гидроксиапатита, синтезированного ферментативным синтезом в водном растворе глицерофосфата кальция, и фосфатов, выпавших в результате минерализации иттриевых сфер в растворе.

На рисунке 33 представлены ИК-спектры альгината натрия (ANa) и полученных из него кальциевых (ACa), иттриевых (AY) и железных (AFe) альгинатных сфер. На ИК-спектрах присутствуют все характерные для альгинатов полосы. Их соотнесение с колебательными модами проведено на основе литературных данных [87,162–164] и представлено в таблице 10. 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 соответственно, а моды при $1029\text{--}1090\text{ см}^{-1}$ можно отнести к валентным колебаниям С-О и С-С. На спектрах образца AFe также заметна мода колебаний при 1744 см^{-1} , характерная для спектров альгиновой кислоты [162]. Ее можно отнести к протонированным карбоксилатным группам COO⁻. Можно сделать вывод, что вследствие низкого рН реакционного раствора происходит частичное протонирование карбоксильных групп альгината [165].

Асимметричные валентные колебания карбоксилатного иона ($\nu_a(\text{COO}) = 1603\text{--}1621\text{ см}^{-1}$) для альгината кальция, иттрия и железа смещены к более низким волновым числам, по сравнению с альгинатом натрия. Такой сдвиг обусловлен природой сшивающего катиона, имеющего другую электронную плотность, радиус и атомный вес, по сравнению с Na⁺. Пики двухвалентного альгината кальция и трехвалентных альгината иттрия и железа более острые и интенсивные, по сравнению с пиками на спектре альгината натрия. Это свидетельствует об ограниченной подвижности молекул, заключенных в структуру «яичная коробка» [87].

Согласно работе [162] тип координации металл-карбоксилат для альгинатов связан с модами асимметричных и симметричных валентных колебаний карбоксилатного иона ($\nu_a(\text{COO}) = 1621\text{--}1610\text{ см}^{-1}$; $\nu_s(\text{COO}) = 1410\text{--}1423\text{ см}^{-1}$). Частоты, соответствующие данным модам у альгинатов, скоординированных многозарядными ионами могут по-разному соотноситься с аналогичными частотами у альгината натрия. В случае кальциевых, иттриевых и железных сфер их $\Delta\nu = \nu_a(\text{COO}) - \nu_s(\text{COO})$ близка к $\Delta\nu$ альгината натрия (ACa: 193 см^{-1} , AY: 197 см^{-1} , AFe: 188 см^{-1} , ANa: 211 см^{-1}). Это свидетельствует о бидентатной псевдомостовой координации в представленных в работе альгинатных гидрогелях. Согласно данной модели строения комплекса один из кислородов карбоксильной группы взаимодействует с ионом металла, а другой участвует в образовании водородной связи с соседней гидроксильной группой.

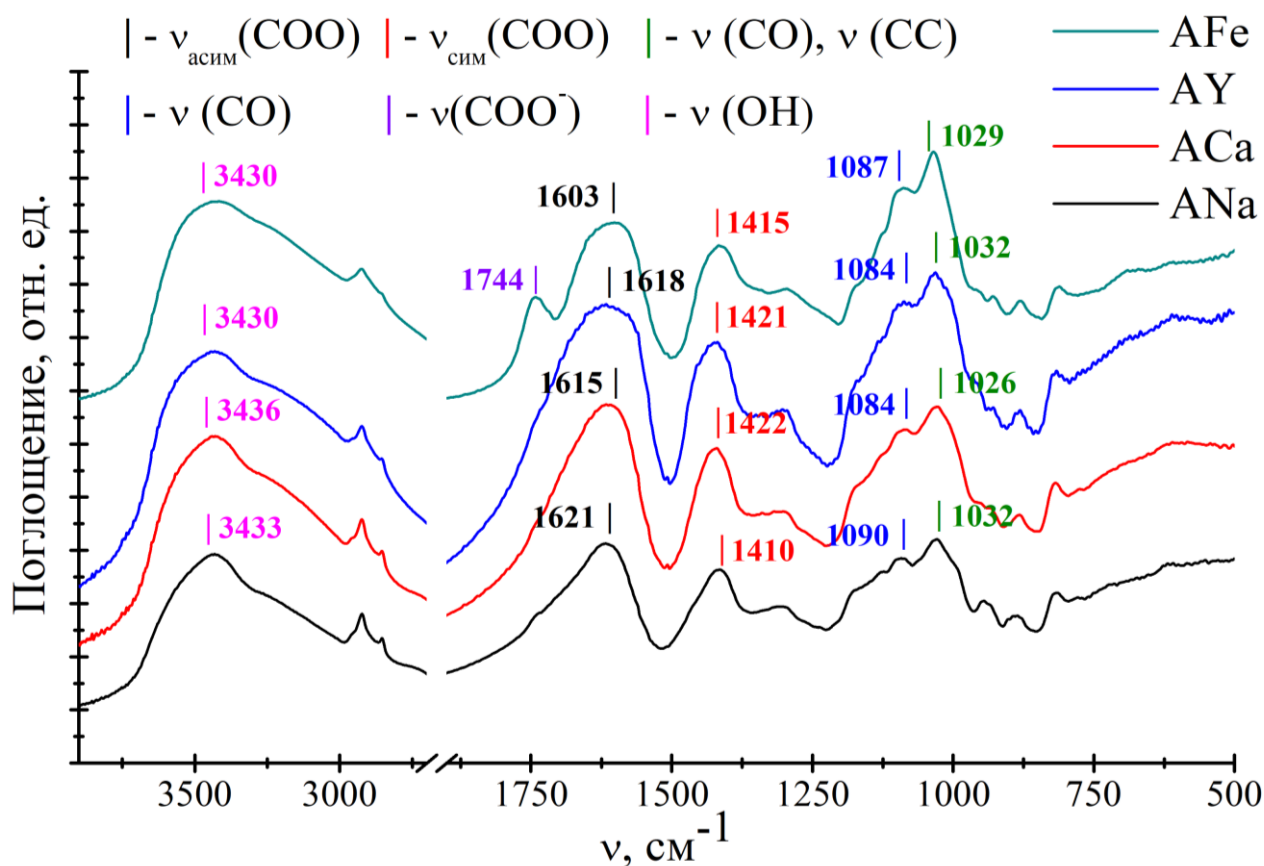


Рисунок 33. ИК спектроскопия альгината натрия ANa и альгинатных сфер ACa, AY и AFe, полученных из альгината ANa.

Таблица 10. Колебательные моды в см^{-1} , присутствующие на ИК-спектрах образцов ANa, ACa, AY и AFe; ν : валентные; δ : деформационные; s : симметричные; a : асимметричные.

Колебания/Образец	ANa	ACa	AY	AFe
$\nu(\text{OH})$	3433	3436	3430	3430
$\nu_a(\text{CH})$	2920	2926	2923	2924
$\nu_s(\text{CH})$	2854	2854	2854	2851
$\nu(\text{COO}^-)$	-	-	-	1744
$\nu_a(\text{COO})$	1621	1615	1618	1603
$\nu_s(\text{COO})$	1410	1422	1421	1415
$\delta(\text{OH}), \delta(\text{CH})$	1310	1310	1304	1293
$\nu(\text{C-O-C}), \nu(\text{OH})$	1177	1174	1174	1175
$\nu(\text{C-O}), \nu_s(\text{C-C})$	1123	1135	1129	1132
$\nu(\text{C-O}), \delta(\text{C-C-O}), \delta(\text{C-C})$	1090	1084	1084	1087
$\nu(\text{C-O}), \nu(\text{C-C}), \delta(\text{C-OH})$	1032	1026	1032	1029
$\nu(\text{C-O})$	942	942	924	932
уроновые кислоты				
$\delta(\text{CH}), \nu(\text{C-O})$	891, 815	882, 821	885, 821	881, 812
маннуриновая кислота				

ИК-спектры ферментативно минерализованных альгинатных гидрогелей, представленные на рисунке 34, не демонстрируют наличие новых пиков, которые можно было бы отнести к гидроксиапатиту, поскольку все характерные для гидроксиапатита колебательные моды совпадают с модами альгинатов (таблица 11). В литературе известно о наличии на спектрах минерализованных альгинатов характерных колебаний PO_4^{3-} в диапазоне $1200\text{--}965\text{ см}^{-1}$ и $500\text{--}600\text{ см}^{-1}$ [166]. Однако в данном случае количество образованного в ходе синтеза гидроксиапатита недостаточно велико для того, чтобы его можно было обнаружить на ИК-спектрах.

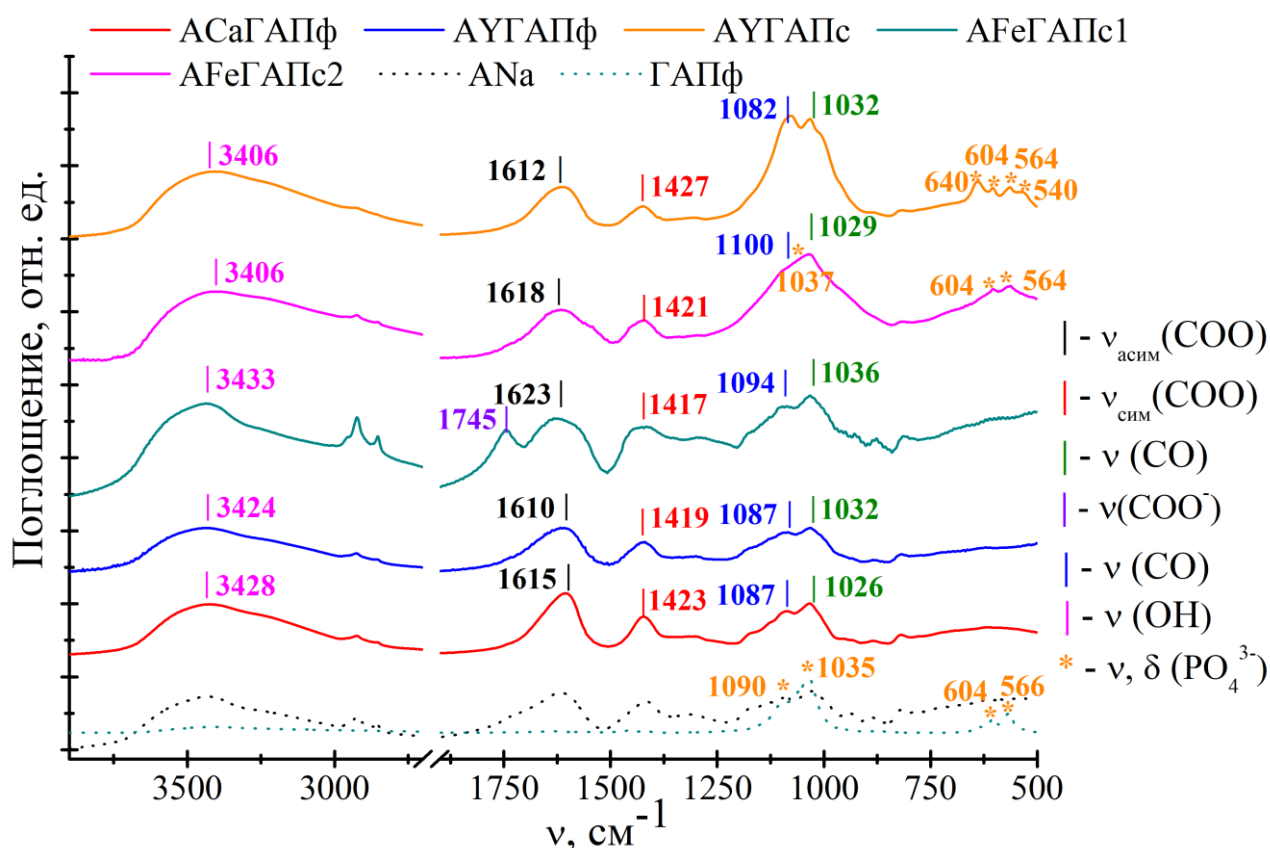


Рисунок 34. ИК спектроскопия минерализованных сфер альгината кальция (АСаГАПф), иттрия (АУГАПф и АУГАПс) и железа (АFeГАПс1 и АFeГАПс2). Пунктиром обозначены спектры альгината натрия и гидроксиапатита.

Тем не менее на спектре минерализованного альгината иттрия присутствуют некоторые отличия, которые позволяют судить об изменении структуры гидрогеля. Пики основных мод колебания альгината иттрия после минерализации становятся менее интенсивными и острыми, что, по всей видимости, свидетельствует о разупорядочении жесткой структуры «яичная коробка» и повышении подвижности молекул. Это объясняется тем фактом, что в реакционной среде при минерализации присутствуют ионы Ca^{2+} глицерофосфата. Таким образом, возникает конкуренция между Y^{3+} и Ca^{2+} за связывание карбоксильных групп, и структура становится разупорядоченной. Так же образующийся гидроксиапатит может предоставлять свои ионы Ca^{2+}

для сшивания альгината, что было продемонстрировано в работе [167]. Это также вносит свой вклад в разупорядочение.

Таблица 11. Основные колебательные моды в см^{-1} , присутствующие на ИК-спектрах минерализованных альгинатных сфер АСаГАПф, АУГАПф, АУГАПс, АFeГАПс1, АFeГАПс2; ν : валентные; δ : деформационные; s : симметричные; a : асимметричные.

Колебания/Образец	АСаГАПф	АУГАПф	АУГАПс	АFeГАПс1	АFeГАПс2
$\nu(\text{OH})$	3424	3428	3406	3430	3406
$\nu_a(\text{CH})$	2925	2924	2927	2925	2926
$\nu_s(\text{CH})$	2852	2853	2849	2850	2852
$\nu(\text{COO}^-)$	-	-	-	1745	-
$\nu_a(\text{COO})$	1610	1615	1612	1624	1618
$\nu_s(\text{COO})$	1419	1423	1427	1418	1421
$\delta(\text{OH}), \delta(\text{CH})$	1299	1305	1307	1293	1294
$\nu(\text{C-O-C}), \nu(\text{OH})$	1174	1171	-	1175	-
$\nu(\text{C-O}), \nu_s(\text{C-C})$	1131	1127	-	1132	-
$\nu(\text{C-O}), \delta(\text{C-C-O}), \delta(\text{C-C})$	1087	1087	1082	1094	1100
$\nu(\text{PO}_4^{3-})$	-	-	-	-	1037
$\nu(\text{C-O}), \nu(\text{C-C}), \delta(\text{COH})$	1026	1032	1032	1036	1029
$\nu(\text{C-O})$ уроновые кислоты	947	935	-	932	-
$\delta(\text{CH}), \nu(\text{C-O})$ маннуриновая кислота	886, 819	885, 818	884, 817	878, 811	817
$\delta(\text{PO}_4^{3-}) - \text{YPO}_4$	-	-	640, 540	-	-
$\delta(\text{PO}_4^{3-}) - \text{ГАП}$	-	-	604, 564	-	604, 566

У минерализованного суспензией образца АУГАПс помимо основных колебательных мод альгинатов на ИК-спектре появляются и колебательные моды в районе $640 - 540 \text{ см}^{-1}$, которые однозначно относятся к фосфатным группам. Причем деформационные колебания при 640 и 540 см^{-1} являются характерными для YPO_4 , что обсуждалось ранее (рисунок 32). Моды же при 604 и 564 см^{-1} однозначно относятся к фазе гидроксиапатита, а в области $1080 - 1030 \text{ см}^{-1}$ наблюдается взаимное наложение полос альгинатов и фосфатов кальция. Таким образом, для АУГАПс можно предположить аналогичный состав минеральной фазы, как и в случае АУГАПф, а именно: $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}/\text{YPO}_4$. Такой состав объясняется процессами сорбции катионов Y^{3+} на апатите в слабокислой среде во время сшивания сфер, что приводит к процессам перекристаллизации и аморфизации, и было ранее продемонстрировано на дифрактограмме данного образца (рисунок 31). Стоит также отметить возросшую общую интенсивность и остроту пиков на ИК-спектре образца АУГАПс, что свидетельствует об образовании более жесткой структуры, связанной с избытком минеральной фазы, по сравнению с альгинатом.

ИК-спектр железосодержащих сфер АFeГАПс1, минерализованных гидроксиапатитом из суспензии и сшитых в водном растворе хлорида железа, не показывает наличие новых пиков, которые могли бы быть отнесены к гидроксиапатиту, что подтверждает растворение фазы в процессе синтеза. При 1745 см^{-1} присутствует полоса протонированной карбоксильной группы. В случае аналогичного синтеза, но в ацетатном комплексе железа (АFeГАПс2), наблюдается появление новых колебаний на спектре, что хорошо согласуется с рентгеновской дифракцией образца, приведенной на рисунке 31. Наличие минеральной фазы приводит к взаимному наложению полос гидроксиапатита и альгината при $1150 - 1020\text{ см}^{-1}$ и появлению новых полос при 604 и 564 см^{-1} , которые однозначно относятся к колебаниям PO_4^{3-} группы гидроксиапатита [25,26]. Поскольку в данном синтезе происходит повышение рН до 4.3, то эффект протонирования ослабляется, и на спектре альгината железа АFeГАПс2 мода колебаний $\nu(\text{COO}^-)$ при 1745 см^{-1} не наблюдается.

На рисунке 35 приведены спектры КР кальциевых и иттриевых альгинатных сфер различного состава. Для железосодержащих образцов наблюдался сильный разогрев образцов, что не позволило получить спектры. На КР спектрах кальциевых и иттриевых сфер присутствуют все характерные для альгинатов моды (таблица 12). Соотнесение основано на литературных данных о КР спектрах альгинатов [168,169]. Согласно литературным данным [168] сшивка альгината натрия ионами кальция приводит к изменению положения моды симметричных валентных колебаний COO^- ($\nu_s(\text{COO}) = 1415\text{ см}^{-1}$). Эта закономерность продемонстрирована и в нашей работе. При сшивании происходит изменение рамановского сдвига $\nu_s(\text{COO})$ с 1415 см^{-1} для альгината натрия до 1419 см^{-1} для альгината кальция и 1427 см^{-1} для альгината иттрия.

Отметим, что данный сдвиг для минерализованного альгината кальция АСаГАПф увеличивается до 1421 см^{-1} , что может, говорит о дополнительной координации ионами Ca^{2+} при минерализации сфер, о чем уже говорилось выше. Для минерализованных сфер альгината иттрия АУГАПф происходит уменьшение сдвига с 1427 см^{-1} до 1421 см^{-1} , что также подтверждает наличие конкуренции за связывание между Y^{3+} и Ca^{2+} . На КР-спектре образца АУГАПс можно обнаружить новые моды, характерные для фазы гидроксиапатита: колебания группы PO_4^{3-} при 1072 см^{-1} , 1044 см^{-1} , 967 см^{-1} , а также при 579 и 435 см^{-1} [170]. Также на спектре присутствуют и полосы характерные для симметричных и ассиметричных валентных колебаний группы PO_4^{3-} фосфата иттрия [160] при 503 см^{-1} и 1005 см^{-1} , что подтверждает данные ИК спектроскопии о наличии фазы YPO_4 в образце.

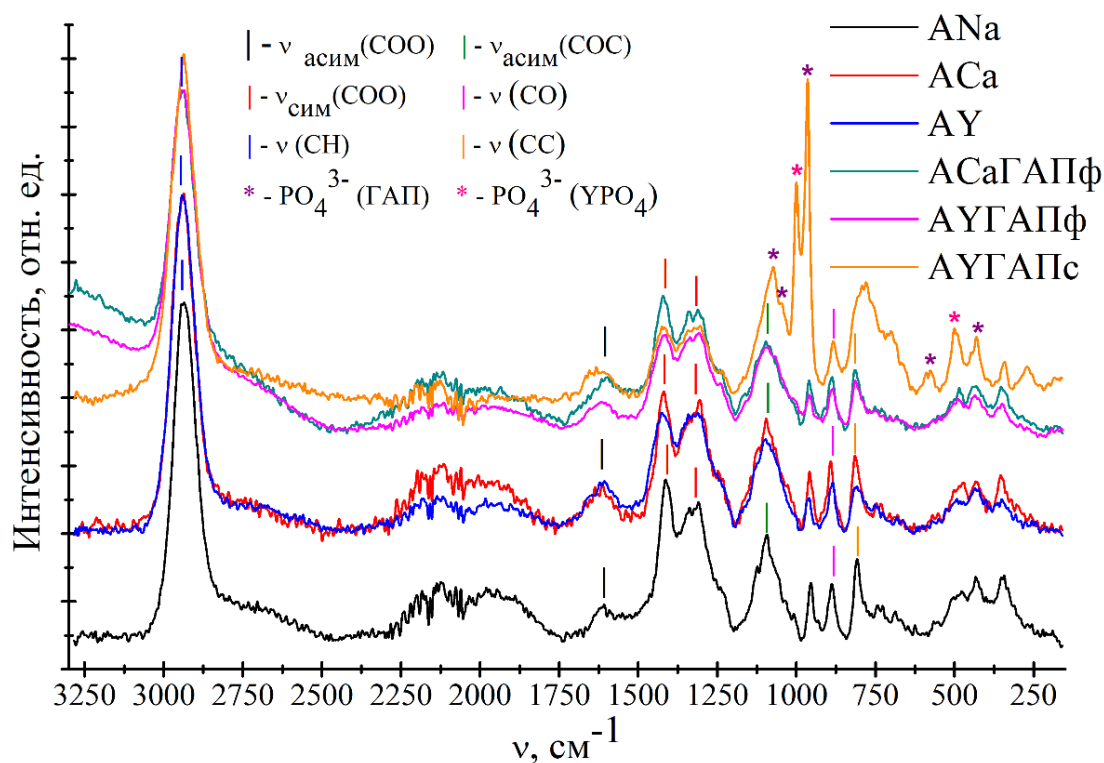


Рисунок 35. КР спектры образцов альгинатов ANa, AСa, AY, АСаГАПф, АУГАПф и АУГАПс.

Таблица 12. Основные колебательные моды в см^{-1} , присутствующие на КР спектрах образцов ANa – АУГАПс; ν : валентные; δ : деформационные; s : симметричные; a : асимметричные.

Колебания/Образец	ANa	AСa	AY	АСаГАПф	АУГАПф	АУГАПс
$\nu(\text{CH})$	2936	2939	2939	2939	2939	2935
$\nu_a(\text{COO})$	1608	1613	1608	1602	1602	1635
$\nu_s(\text{COO})$	1313, 1415	1304, 1419	1316, 1427	1306, 1421	1306, 1421	1316, 1419
$\delta(\text{CH})$	1337	-	-	1338	1338	1342
$\nu(\text{C-O})$	1240	1246	1258	1237	1237	1239
$\nu_{\text{asym}}(\text{C-O-C})$ гликозидное кольцо	1095	1098	1098	1094	1094	-
$\nu_{\text{sym}}(\text{PO}_4^{3-})$ - ГАП	-	-	-	-	-	1072, 1044, 967
$\nu_{\text{asym}}(\text{PO}_4^{3-})$ - УРО ₄	-	-	-	-	-	1005
$\delta(\text{C-C-H})$	954	961	960	958	958	-
$\nu(\text{C-C}), \nu(\text{C-O})$	809, 888	815, 893	809, 884	816, 892	816, 892	783, 884
$\nu_{\text{sym}}(\text{C-O-C})$ гликозидное кольцо	684	682	672	-	-	-
$\nu(\text{PO}_4^{3-})$ - ГАП	-	-	-	-	-	579, 435
$\nu_{\text{sym}}(\text{PO}_4^{3-})$ - УРО ₄	-	-	-	-	-	503
$\delta(\text{C-C-C}), \delta(\text{C-O-C})$ деформация кольца	430, 558	433, 555	430, -	433, -	433, -	-

3.5. Набухание и устойчивость сфер в биологических жидкостях

Чтобы оценить возможность применения альгинатных сфер в качестве носителей радионуклидов важно определить их поведение в биологических жидкостях. Для уменьшения размера альгинатных сфер (таблица 8) и снижения вымывания радионуклидов предполагается их практическое использование в высушенном состоянии. В таком случае, вследствие набухания, можно ожидать проявление эмболического эффекта, полезного в рамках противораковой терапии [171]. Для оценки набухания сфер использовали степень набухания SR, %:

$$SR = \frac{V_t}{V_0} \times 100\% \quad (7)$$

где V_0 , мм³ – объем влажной сферы; V_t , мм³ – объем набухающей после высушивания сферы через время t , мин.

После высушивания и повторного набухания в водной среде сферы достигают лишь 10% от их исходного объема в случае альгинатов кальция и иттрия, что вероятно связано с закупоркой пор при высушивании. В воде высушенные сферы достигают максимально возможной SR в течение 4 ч (рисунок 36). Для сфер на основе альгината железа, а также минерализованных суспензией иттриевых сфер АУГАПс в водной среде не было обнаружено процессов набухания.

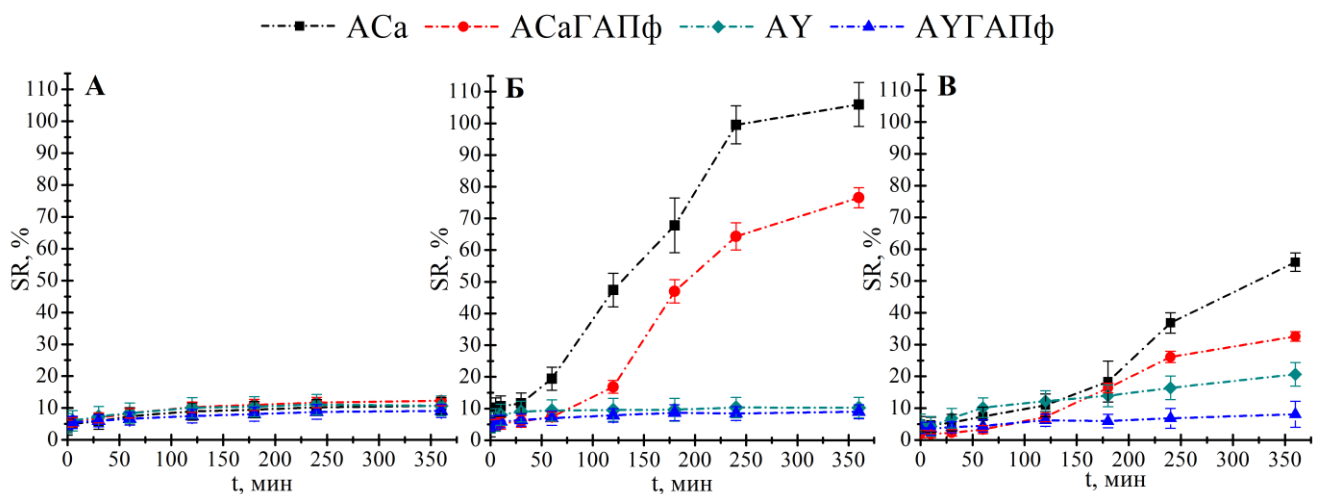


Рисунок 36. Кривые набухания воздушно-сухих сфер АСа, АУ, АСаГАПф, АУГАПф в водной среде (А), в 0.9% водном растворе NaCl (Б) и в сыворотке крови (В) при $T = 20$ °С.

Для исследования набухания сфер в условиях *in vivo* необходимо рассмотреть среды близкие к биологическим жидкостям. В первом приближении это физиологический раствор 0.9% NaCl. Набухаемость кальцийсодержащих сфер в физиологическом растворе заметно отличается от водной среды. Высушенные сферы альгината кальция возвращают свои прежние размеры (таблица 13, образец АСа) с $SR \geq 100\%$, а минерализованные около 80% своего объема (таблица 13, образец АСаГАПф). Эффект набухания сфер альгината кальция в присутствии Na^+ известен

в литературе и объясняется прежде всего конкурированием ионов Na^+ и Ca^{2+} за координацию с карбоксильными группами альгината [172,173]. Происходит частичное высвобождение Ca^{2+} в раствор, растёт электростатическое отталкивание групп COO^- , что вызывает набухание. Снижение данного эффекта при минерализации сфер, вероятно, объясняется частичным координированием карбоксильных групп альгината ионами Ca^{2+} гидроксиапатита, которые будучи связанными в прочную кристаллическую решетку, не высвобождаются в раствор. Данная особенность структуры минерализованных сфер уже обсуждалась в предыдущем разделе 3.4. Иттриевые сферы в физиологическом растворе набухают также, как и в водном растворе ($\text{SR} \approx 10\%$), что свидетельствует о более плотной структуре полимерной сетки, сшитой иттрием. Для сфер на основе альгината железа и иттриевых сфер АУГАПс в физиологическом растворе также не было обнаружено заметного набухания.

В качестве более приближенной к практике модели использовали сыворотку крупного рогатого скота. Когда в сыворотку помещали высушенные образцы альгинатов, было обнаружено, что кальциевые сферы демонстрировали меньшее набухание, чем в физиологическом растворе: АСа и АСаГАПф показали в 2 раза более низкий SR после 6 часов эксперимента (таблица 13). В тоже время, сферы АУ продемонстрировали набухание до 21%. Наблюдаемые эффекты можно объяснить сочетанием структурных особенностей сухих сфер и влияния на набухание компонентов сыворотки (белки, биологически активные вещества, минеральные вещества и др). Минерализованные сферы АУГАПф и АУГАПс, а также все исследуемые в работе сферы альгината железа продемонстрировали устойчивость к набуханию в сыворотке крови в первые 6 часов эксперимента.

Таблица 13. Степень набухания (SR) после 6 ч набухания в воде, физиологическом растворе (0.9% NaCl) и сыворотке крови при 20 °С сфер АСа, АСаГАПф, АУ и АУГАПф.

Образец	$\text{SR}, \% - \text{H}_2\text{O}$	$\text{SR}, \% - 0.9\% \text{NaCl}$	$\text{SR}, \% - \text{сыворотка}$
АСа	11 ± 2	106 ± 7	56 ± 3
АУ	11 ± 3	10 ± 3	21 ± 4
АСаГАПф	12 ± 2	77 ± 3	33 ± 2
АУГАПф	9 ± 2	9 ± 2	8 ± 4

Помимо более заметного набухания в физиологическом растворе и сыворотке крови кальцийсодержащие сферы также демонстрируют изменения в кинетике данного процесса (рисунок 36). Кривые набухания кальцийсодержащих образцов АСа и АСаГАПф имеют изломы, что указывает на затруднение диффузии ионов Na^+ в сферу, которые и отвечают за ускоренное набухание геля. Схожий эффект наблюдается на кривых кинетики набухания, полученных в сыворотке, однако с большим замедлением данного процесса, связанного с вязкостью среды и вероятным взаимодействием групп COO^- с белками.

Если рассмотреть процесс набухания альгинатных сфер, как процесс диффузии воды в свободное пространство между цепями высушенного гидрогеля, то кинетика данного процесса может быть описана с помощью законов Фика. Помимо диффузии воды важную роль в процессе набухания играет макромолекулярная релаксация полимерных цепей. В таком случае для описания кинетики набухания можно использовать уравнение Корсмейера-Пеппаса [58,174] и ее логарифмическую форму:

$$SR = kt^n \quad (8)$$

$$\ln SR = \ln k + n \ln t \quad (9)$$

где SR – степень набухания; k , мин^{-n} – константа, учитывающая параметры полимерной сетки, а n – показатель степени, который указывает на механизм диффузии. $n \leq 0.5$ – Фиковская диффузия: скорость диффузии меньше скорости релаксации полимерных цепей. $0.5 < n < 1$ – Нефиковская (аномальная) диффузия: скорость диффузии быстрее скорости релаксации полимерных цепей.

На рисунке 37 представлены результаты обработки кривых набухания по модели Корсмейера-Пеппаса. В водной среде для всех типов сфер наблюдается линейная зависимость $\ln(SR)$ от $\ln(t)$ на всей кривой от 10 до 360 мин. Значения $n < 0.5$ свидетельствуют о фиковской диффузии при набухании в водной среде (Таблица 14). В физиологическом растворе и сыворотке крови для иттриевых сфер АУ и АУГАПф также наблюдается фиковская диффузия на всем участке кривой. Однако для кальциевых сфер АСа и АСаГАПф наблюдается разбиение на два линейных участка. Первый участок соответствует медленной фиковской диффузии ($n < 0.5$), которая приводит к разрушению внешнего «прочного» слоя, а второй - последующей быстрой стадии релаксации «мягкого ядра» ($n \geq 1$). Представленные расчеты носят оценочный характер и нуждаются в дальнейшем уточнении путем постановки экспериментов с увеличенной выборкой. Можно предположить, что при значительном уменьшении размера сфер за счет использования других методов синтеза, будет происходить изменение физико-химических характеристик сфер, а значит и изменение характера набухания.

Стоит отметить, что в методах эмболизации активно используются как материалы, которые не набухают (стеклянные микросферы TheraSphere[®]), так и материалы, которые демонстрируют значительное набухание из сухого состояния. Например, полимерные микросферы Embosphere[®] возвращают до 90% от исходного объема [56]. В литературе отмечается положительный эффект набухания при эмболизации, который позволяет спрессованным высушенным гранулам проходить через трубки малого диаметра, достигать конечных кровеносных сосудов и, набухая, закупоривать их [57]. Тем не менее, степень и

соотношение набухания должны выбираться в соответствии с требованиями конкретной терапии и утверждаться после тщательного тестирования *in vivo*.

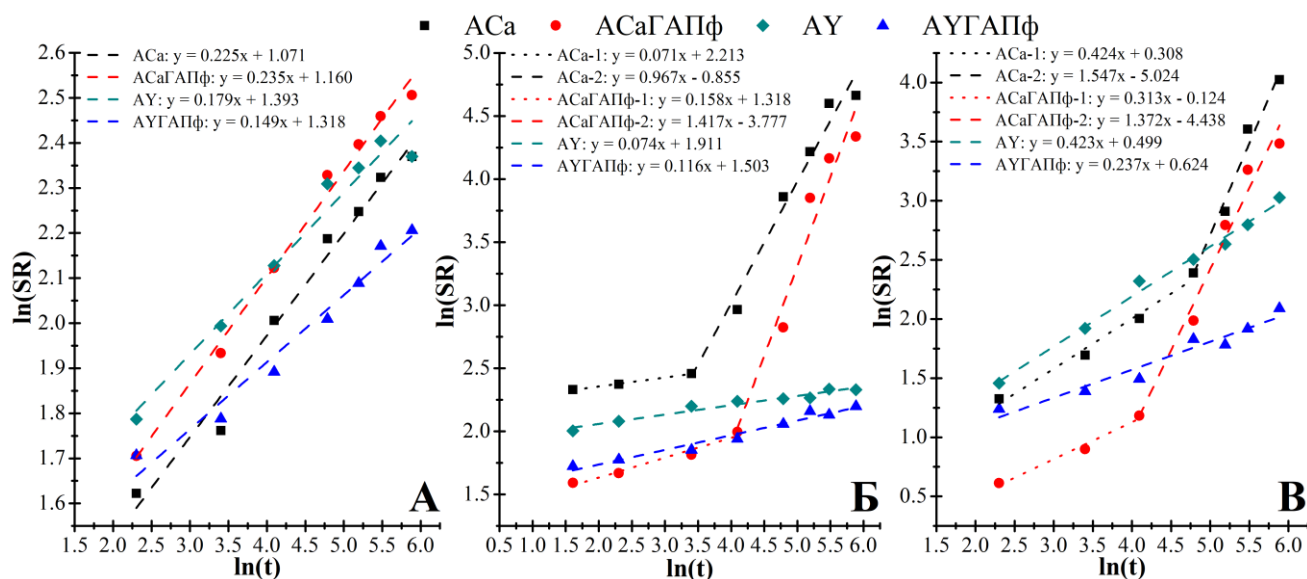


Рисунок 37. Обработка кинетики набухания альгинатных сфер по модели Корсмейера-Пеппаса в водной среде (А), в 0.9% водном растворе NaCl (Б) и в сыворотке крови (В).

Таблица 14. Результаты обработки кинетики набухания по модели Корсмейера-Пеппаса.

Образец	Среда	Участок	n	k , % \times мин $^{-n}$	R^2	
АСа	H ₂ O	10 – 360 мин	0.23 ± 0.01	2.9 ± 0.2	0.9773	
		5 – 30 мин	0.071 ± 0.004	9.14 ± 0.04	0.9923	
	0.9% NaCl	30 – 360 мин	0.97 ± 0.07	0.43 ± 0.06	0.9742	
		сыворотка	10 – 120 мин	0.42 ± 0.04	1.36 ± 0.08	0.9778
			120 – 360 мин	1.5 ± 0.2	0.007 ± 0.001	0.9657
АСаГАПф	H ₂ O	10 – 360 мин	0.235 ± 0.009	3.19 ± 0.09	0.9904	
		0.9% NaCl	5 – 60 мин	0.16 ± 0.02	3.7 ± 0.9	0.9511
	60 – 360 мин		1.4 ± 0.2	0.023 ± 0.005	0.9367	
	сыворотка	10 – 60 мин	0.31 ± 0.04	0.88 ± 0.07	0.9686	
		60 – 360 мин	1.4 ± 0.1	0.012 ± 0.002	0.9675	
АУ	H ₂ O	10 – 360 мин	0.18 ± 0.02	4.0 ± 0.5	0.9582	
		0.9% NaCl	5 – 360 мин	0.074 ± 0.007	6.8 ± 0.9	0.9477
	сыворотка	10 – 360 мин	0.42 ± 0.02	1.6 ± 0.3	0.9896	
АУГАПф	H ₂ O	10 – 360 мин	0.15 ± 0.01	3.7 ± 0.1	0.9634	
		0.9% NaCl	5 – 360 мин	0.116 ± 0.009	4.5 ± 0.1	0.9619
	сыворотка	10 – 360 мин	0.24 ± 0.03	1.9 ± 0.4	0.9328	

Во всех высушенных альгинатных сферах, представленных в работе, после нахождения в сыворотке помимо набухания наблюдались процессы постепенной деградации и разрушения, которые наиболее явно проявлялись после 24 ч эксперимента. Поведение влажных альгинатных сфер после помещения в сыворотку отличалось от воздушно сухих. Сферы альгината кальция АСа и АСаГАПф во влажном состоянии показали хорошую устойчивость к разрушению в сыворотке (рисунок 38). При погружении в сыворотку влажных сфер альгината иттрия АУ и

АУГАПф, происходило их заметное сжатие, и они теряли порядка 70% своего объема (рисунок 38). Это можно объяснить разным осмотическим давлением между биологической средой и раствором внутри сфер, в результате которого часть воды выходит из гидрогеля, выравнивая осмотический градиент. К 24 часам наблюдения происходило разрушение части сфер альгината иттрия, вероятно, вследствие неравномерности их сшивки. Минерализация сфер альгината иттрия нанокристаллическими частицами ГАПс (образец АУГАПс) позволила заметно улучшить устойчивость сфер к разрушению в сыворотке крови с сохранением общей формы сферы и появлением небольшого числа трещин на сферах после 24 часов выдержки.

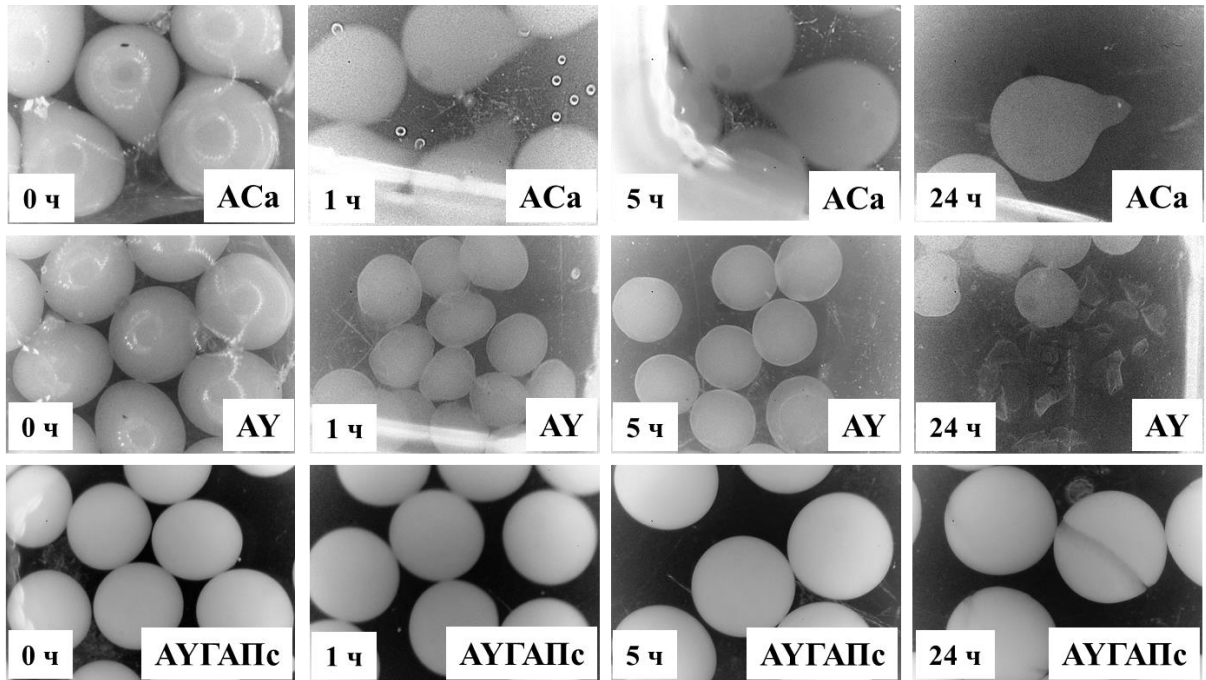


Рисунок 38. Микрофотографии сфер альгината кальция и иттрия (АСa и АУ) и минерализованных сфер альгината иттрия (АУГАПс) во влажном состоянии в сыворотке крови при $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ после разного времени выдержки.

На рисунке 39 представлены оптические микрофотографии сфер альгината железа АFe и АFeСl, которые выдерживаются различное время в сыворотке крови. Видно, что не содержащие фосфаты сферы АFe и АFeСl начинают разлагаться в среде сыворотки крови спустя 10 минут, о чем можно судить по появлению прозрачной области на поверхности сфер. Через час после начала взаимодействия сферы АFe и АFeСl становятся полностью прозрачными, а через 24 часа наблюдается разрушение сфер. Минерализованные сферы АFeГАПс1 и АFeГАПс2 при этом оказываются более устойчивыми в сыворотке крови (рисунок 39), и признаки разрушения сфер начинают наблюдаться только спустя неделю исследований.

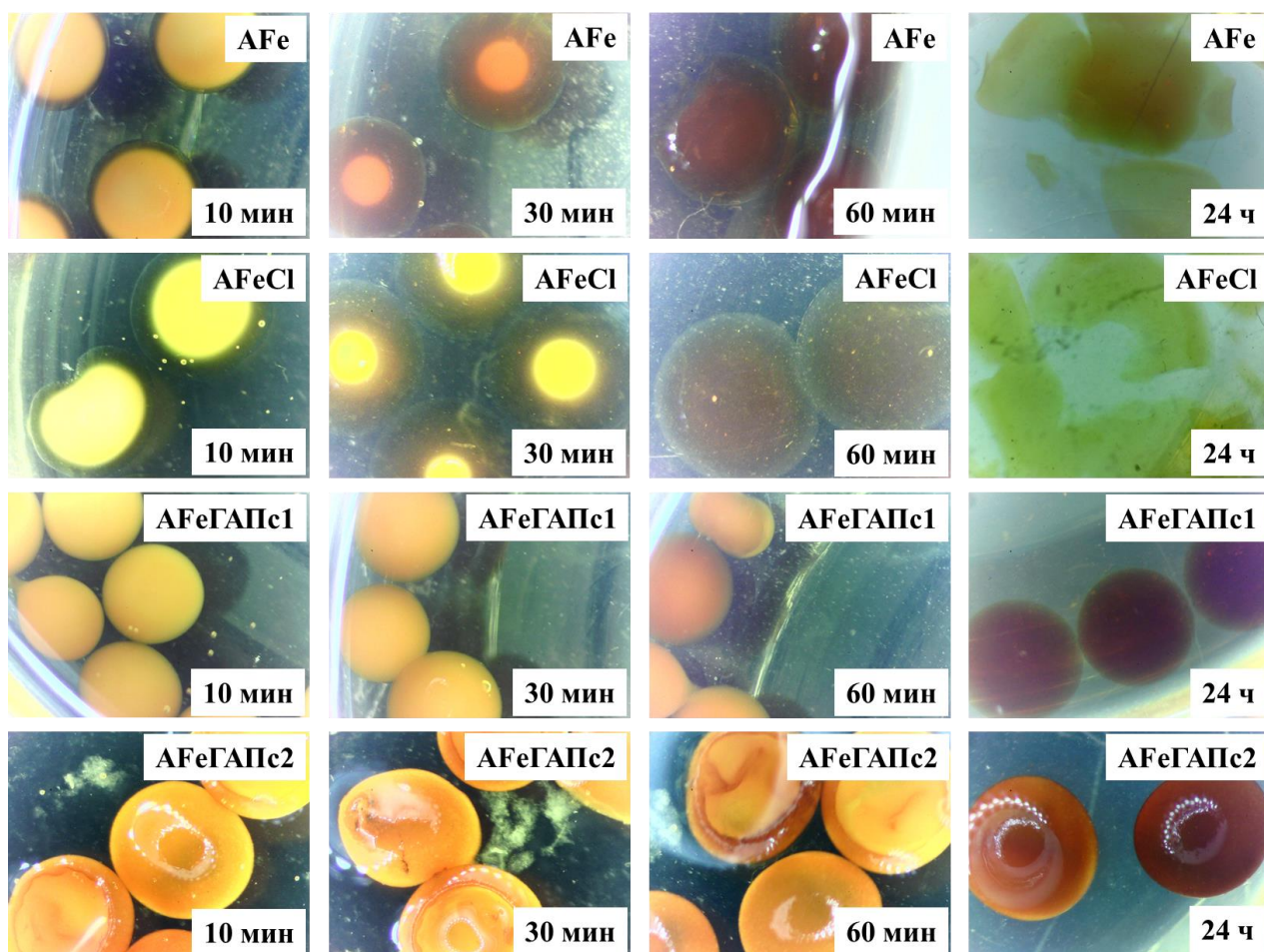


Рисунок 39. Оптические микрофотографии влажных сфер альгината железа AFe, AFeCl, AFeГАПс1 и AFeГАПс2 в сыворотке крови при $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ после разного времени выдержки.

Результаты, представленные в данной главе, показывают, что набухание альгинатных сфер из высушенного состояния можно контролировать путем выбора катиона для сшивания и с помощью минерализации. Альгинаты кальция лучше набухают в биологических жидкостях, что свидетельствует об их потенциальном эмболическом эффекте. Высушенные сферы альгината иттрия и железа демонстрируют меньшее набухание и, следовательно, меньший эмболический эффект, но это компенсируется их более высокой стабильностью в биологических средах. При этом влажные сферы, сшитые катионами трехвалентных металлов склонны к разрушению в сыворотке крови, что в меньшей степени характерно для сфер, сшитых двухвалентным кальцием и, вероятно, связано с более равномерной сшивкой данных сфер. Ферментативная минерализация ввиду небольшого количества образующейся минеральной фазы не оказывает значимого эффекта на стабильность влажных сфер в сыворотке. При этом сферы альгината иттрия и железа, минерализованные большим количеством суспензионного ГАП, оказываются заметно стабильнее в данных условиях. Вне всякого сомнения, указанные особенности поведения сфер в биологических жидкостях должны оказать влияние на устойчивость к десорбции радионуклида, что будет обсуждаться в следующих разделах 3.6 и 3.7.

3.6. Внедрение иттрия-90 в альгинатные сферы

Радионуклид ^{90}Y может быть введен в альгинатные сферы в растворе различными способами: непосредственно при их сшивке, сорбцией на уже готовых сферах и с помощью изотопного обмена [175]. Последние два варианта являются наиболее предпочтительными поскольку проводятся на завершающей стадии синтеза и предполагают практически полное извлечение радионуклида из раствора, в то время как в случае сшивания требуется избыток нитрата иттрия из-за чего большая часть радиоактивности будет неизбежно оставаться в растворе (см. раздел 3.1). Сорбцию иттрия проводили из раствора нитрата иттрия и определяли по убыли катионов иттрия из раствора с помощью спектрофотометрии. Сорбция иттрия q , мг/г была рассчитана по следующей формуле:

$$q = \frac{(C_0 - C_t)V}{m} \quad (10)$$

где C_0 , г/л – начальная концентрация катионов иттрия; C_t , г/л – концентрация катионов иттрия в ходе измерения; V , л – объем раствора нитрата иттрия; m , г – масса альгинатных сфер.

Для сфер АСа, АСаГАПф, АУГАПф и AlgYGAПс была определена максимальная сорбционная емкость, которая составила 30 ± 1 мг/г, 38 ± 2 мг/г, 45 ± 2 мг/г и 90 ± 4 мг/г соответственно. Эти значения емкости по отношению к иттрию сравнимы с другими полимерными материалами [98,176–178]. Ферментативная минерализация кальциевых сфер (образец АСаГАПф) позволила увеличить сорбционную емкость материала на 27%, по сравнению с кальциевыми сферами АСа, за счет дополнительной сорбции на фосфатах кальция. Более высокая емкость сфер АУГАПф свидетельствует о большем количестве минеральной фазы в сферах. Наибольшая сорбционная емкость минерализованных иттриевых сфер АУГАПс демонстрирует их высокую степень минерализации за счет включения избытка нанокристаллического ГАП. Сферы альгината иттрия без модификации не показали заметной сорбции, из чего можно сделать вывод, что в процессе сшивки катионами иттрия были заняты практически все сорбционные центры.

Кинетика сорбции иттрия исследовалась в растворе с концентрацией Y^{3+} 0.7 г/л. В данных условиях мест связывания значительно больше, чем сорбируемых ионов. Это приближает эксперимент к практическому применению, поскольку микрограммов ^{90}Y достаточно для создания необходимой терапевтической дозы [179,180]. Таким образом, решающим фактором является скорость процесса связывания, а не количество связанного иттрия.

На рисунке 40 А представлены данные о кинетике сорбции иттрия на различных альгинатных сферах. Очевидно, что, за исключением образца АУ, процесс сорбции на альгинатных сферах приближается к максимальным значениям в течение 5 часов. Это время

можно рекомендовать для будущих схем введения радионуклида в альгинатные сферы. Граница раздела между водным раствором Y^{3+} и поверхностью альгинатного гидрогеля играет ключевую роль в начальных сегментах кривых сорбции. Следовательно, в начале эксперимента кривые показывают быстрое увеличение сорбции, главным образом за счет массопереноса через поверхность и распределения во внешних слоях сфер. Затем, через 5 часов эксперимента, становится очевидным заметное снижение скорости сорбции.

В кинетическом эксперименте в растворе Y^{3+} с концентрацией 0.7 г/л катионы иттрия хорошо сорбируются на сферах, сшитых кальцием (рисунок 40 А, образец АСа), при этом в случае минерализации сфер наблюдается увеличение максимальной сорбции на ~20%, которое можно отнести к сорбции иттрия на добавленный в систему гидроксиапатит (рисунок 40 А, образец АСаГАПф). Сорбция иттрия для сфер, сшитых иттрием, наблюдается только в случае минерализации фосфатами кальция (рисунок 40 А, образцы АУГАПф и АУГАПс).

Сорбция для образца АСаГАПф оказалась больше, чем у образцов АУГАПф, АУГАПс и составила около 3.1 мг/г. Вероятно, в сшитом кальцием минерализованном образце АСаГАПф иттрий частично замещает кальций, а частично связывается с фосфатами минеральной фазы. В случае минерализованных иттриевых сфер АУГАПф и АУГАПс сорбция происходит только на частицах минеральной фазы гидроксиапатита, а наличие дополнительной фазы фосфата иттрия не способствует повышению емкости. Наименьшая сорбция иттрия на сферах АУГАПс за время кинетического эксперимента (1.9 мг/г) может быть объяснена диффузионными затруднениями при проникновении катионов иттрия вглубь сферы, что связано с большим количеством минеральной фазы в образце.

Для оценки кинетических данных было использовано линейное уравнение псевдо-второго порядка, поскольку оно хорошо описывает экспериментальные данные (рисунок 40 Б) и является классическим для альгинатных сфер [98,181–184]:

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q)^2 \quad (11)$$

Линеаризованная форма его решения имеет вид:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (12)$$

где k_2 , г/мкг×мин – константа скорости; q_t , мкг/г – сорбция иттрия за время t ; q_e , мкг/г – максимальная сорбция в данных условиях; t , мин – время.

Кинетический параметр h , мкг/г×мин, означающий начальную скорость сорбции при $t \rightarrow 0$, рассчитали по уравнению:

$$h = k_2 q_e^2 \quad (13)$$

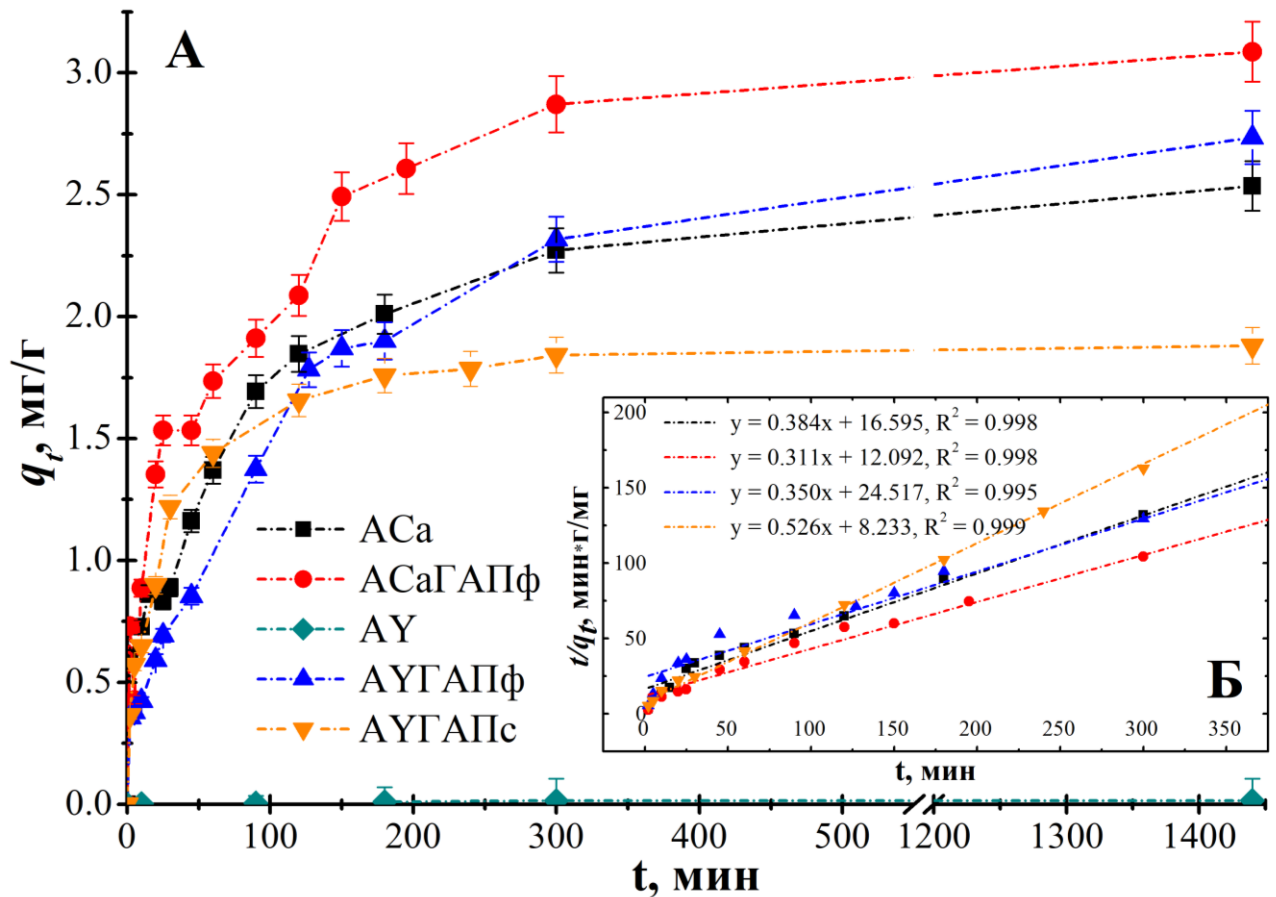


Рисунок 40. А) Кинетика сорбции Y^{3+} на альгинатных сферах АСа, АУ, АСаГАПф, АУГАПф и АУГАПс из раствора нитрата иттрия концентрацией 0.7 г/л при $T = 20$ °С. Б) Обработка данных с помощью уравнения псевдо-второго порядка.

В таблице 15 приведены полученные параметры сорбции. Видно, что в результате эксперимента были достигнуты значения сорбции q_{exp} близкие к расчетному максимуму q_e . Из данных таблицы следует, что минерализованные сферы АСаГАПф, сшитые кальцием, показывают наилучшие результаты по расчетной величине сорбции q_e . Различаются и константа скорости (k_2), и кинетический параметр (h) для каждого вида сфер. Снижение константы скорости k_2 для минерализованных кальциевых сфер АСаГАПф, по сравнению с АСа, вероятно, связано с более медленными процессами сорбции иттрия на гидроксиапатите, по сравнению с процессами ионного обмена в карбоксильных группах альгината. Тем не менее, сферы АСаГАПф характеризуются большим значением параметра h , что можно объяснить наличием большего количества мест для связывания на начальных этапах процесса. Наиболее низкие k_2 и кинетический параметр h для минерализованных иттриевых сфер АУГАПф, поскольку связывание иттрия с ними обусловлено только взаимодействием с фосфатами кальция. Несмотря на неполное извлечение иттрия из раствора, сферы АУГАПс характеризуются наибольшей константой k_2 и максимальной начальной скоростью h , что свидетельствует о сорбции

преимущественно на поверхности данных сфер, которая содержит большое количество сорбционных центров за счет частиц минеральной фазы ГАП.

Таблица 15. 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 ± 0.1	2.61 ± 0.05	0.009 ± 0.001	0.060 ± 0.009	0.9984
АСаГАПф	3.1 ± 0.1	3.21 ± 0.04	0.008 ± 0.001	0.082 ± 0.008	0.9982
АУГАПф	2.7 ± 0.1	2.85 ± 0.07	0.005 ± 0.001	0.04 ± 0.01	0.9954
АУГАПс	1.9 ± 0.1	1.90 ± 0.02	0.034 ± 0.001	0.12 ± 0.01	0.9998

Для медицинского применения на практике наиболее важным параметром является не максимальная емкость или полнота извлечения радионуклида из раствора, а время набора необходимой активности. Эту скорость можно оценив, введя параметр времени необходимого для сорбции 90% от максимальной емкости в данных условиях. Из линейных уравнений, приведенных на рисунке 40 Б, можно получить оценку данного параметра. Для образцов АСа, АСаГАПф, АУГАПф и АУГАПс это время составило 304, 248, 434 и 125 мин соответственно. Таким образом, несмотря на диффузионные затруднения в образце АУГАПс при проникновении катионов иттрия в центр сферы, благодаря высокой скорости сорбции на поверхности сферы на начальном этапе (таблица 15), данный состав сфер является наиболее перспективным для синтеза меченных сфер. При подборе соответствующих условий можно провести мечение сфер АУГАПс за 2 часа, что сильно сокращает время облучения персонала, по сравнению с другими исследованными составами.

После кинетических экспериментов была исследована десорбция иттрия в физиологическом растворе для альгинатных сфер с сорбированным иттрием: АСа/У, АСаГАПф/У, АУГАПф/У и АУГАПс/У. Из полученных данных видно, что в течение длительного времени наблюдается лишь незначительный выход иттрия из сфер, который завершается в течение 24 ч (таблица 16). Вероятно, данный процесс обусловлен наличием растворенного нитрата иттрия, в поровом пространстве сфер оставшегося после их отмывания от сорбционного раствора. Таким образом, для применения данных сфер на практике необходимым является процесс их длительного отмывания для избавления от остатков маточного раствора. По полученным данным можно сделать вывод о том, что для всех видов сфер не наблюдается какой-либо значимой десорбции иттрия в течение длительного времени.

На рисунке 41 представлены результаты электронной микроскопии и РСМА образцов АСа/У, АСаГАПф/У, АУГАПф/У после сорбционных экспериментов и выдерживания в растворе 0.9% NaCl. Согласно элементному картированию и суммарным спектрам РСМА иттрий в

процессе сорбции равномерно распределяется по поверхности сфер и не наблюдается признаков заметной десорбции иттрия.

Таблица 16. Десорбция Y^{3+} в среде 0.9% водного раствора NaCl при 20 °С.

Образец/Время выдержки	1 ч	8 ч	24 ч
АСа/У	$0.4 \pm 0.2\%$	$0.9 \pm 0.4\%$	$0.8 \pm 0.2\%$
АСаГАПф/У	$0.5 \pm 0.2\%$	$0.9 \pm 0.2\%$	$0.7 \pm 0.3\%$
АУГАПф/У	$0.2 \pm 0.1\%$	$1.1 \pm 0.5\%$	$1.0 \pm 0.3\%$
АУГАПс/У	-	-	$0.2 \pm 0.1\%$

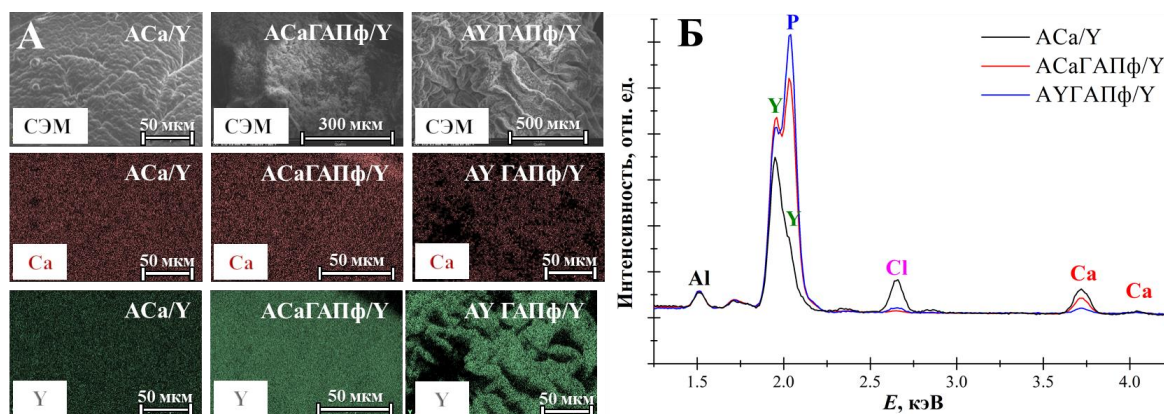


Рисунок 41. Результаты электронной микроскопии и данные картирования РСМА (А) и суммарные спектры РСМА по поверхности (Б) для альгинатных сфер АСа/У, АСаГАПф/У, АУГАПф/У после исследования процессов сорбции Y^{3+} – десорбции Y^{3+} в 0.9% растворе NaCl.

Введение ^{90}Y в альгинатные сферы можно осуществить посредством сорбции или ионного обмена на катионы сшивающего агента, что было продемонстрировано выше. Еще одним из способов 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.

Изотопный обмен происходит между иттрием в растворе и в сферах. Так как сферы предварительно выдерживали в растворе нитрата иттрия, то иттрий в них содержится в двух формах: в поровом пространстве и в сшивках, причем соотношение количества мономера альгината к количеству иттрия равно 3.4 ± 0.2 исходя из приведенных в разделе 3.1 данных о кинетике сшивки (таблица 3). Зная массы сфер, содержание в них альгината, концентрации растворов и их активности до и после изотопного обмена, можно рассчитать теоретическое значение степени обмена F .

Степень обмена рассчитывается по формуле:

$$F = \frac{A_t - A_0}{A_\infty - A_0} \times 100\% \quad (14)$$

где A_t , Бк — активность раствора в момент времени t ; A_0 , Бк — активность раствора в начальный момент времени; A_∞ , 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 42) в статическом режиме. Кинетика обмена быстрая, и равновесие ($F = 1$) в системе достигается за 4 часа. Представляет интерес оценка разницы в кинетике изотопного обмена с иттрием, связанным с карбоксильными группами альгината, и иттрием, сорбированным на фосфатах минеральной фазы. Для этого был исследован изотопный обмен на минерализованных иттриевых сферах АУГАПф/У и АУГАПс/У, на которые, по данным спектрофотометрии, был предварительно сорбирован ^{89}Y в количестве 42 ± 2 мг/г и 89 ± 4 мг/г соответственно. Кинетика этих процессов также представлена на рисунке 42.

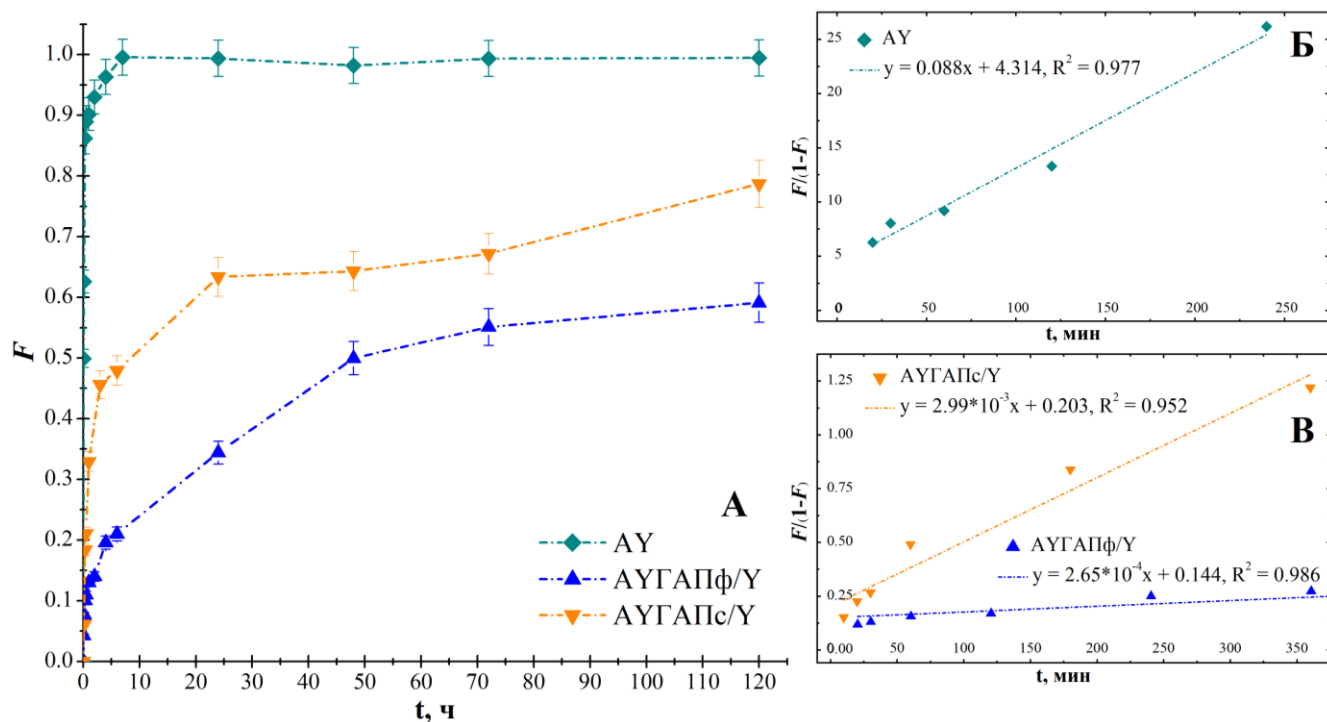


Рисунок 42. А) Кинетика изотопного обмена ^{89}Y - ^{90}Y для сфер АУ и минерализованных сфер АУГАПф/У и АУГАПс/У, на которые было сорбировано 42 ± 2 мг/г и 89 ± 4 мг/г иттрия соответственно. Б, В) Обработка данных с помощью уравнения псевдо-второго порядка.

Несмотря на большее число мест для сорбции, процесс изотопного обмена оказывается 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 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 гидроксиапатите или входящим в состав фосфата иттрия, за счет его включения в кристаллическую решетку и труднодоступности пор внутри частиц. Равновесие в системе не достигается, и на кривой степень обмена доходит до $F = 0.6$ для АУГАПф/У и до $F = 0.8$ для АУГАПс/У через 120 ч измерений. Более быстрый обмен для сфер, содержащих частицы нанокристаллического ГАПс, по сравнению со сферами, содержащими частицы ферментативного ГАПф, объясняется различающейся морфологией данных частиц. Согласно данным, представленным в разделе 3.2, в результате ферментативного синтеза, как в растворе, так и в гидрогелях получается достаточно крупные частицы микрометрового размера с развитой поверхностью (рисунок 19). Однако подобная морфология частиц замедляет изотопный обмен $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$, по сравнению с нанокристаллическим гидроксиапатитом, что было показано в предыдущих исследованиях [137,138].

Для обработки кинетики изотопного обмена было использовано уравнение псевдо-второго порядка [185,186], поскольку оно хорошо описывает экспериментальные данные (рисунок 42Б и В):

$$-\frac{d(1-F)}{dt} = k_2(1-F)^2 \quad (15)$$

Линеаризованная форма его решения имеет вид:

$$\frac{F}{1-F} = k_2 t \quad (16)$$

где k_2 , мин^{-1} – константа скорости обмена; F – степень обмена за время t ; t , мин – время.

При обработке кинетических зависимостей с помощью уравнения (16) были получены следующие эффективные константы скорости изотопного обмена k_2 : $(8.8 \pm 0.6) \cdot 10^{-2} \text{ мин}^{-1}$ для АУ, $(2.9 \pm 0.3) \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1}$ для АУГАПс/У, $(2.7 \pm 0.1) \cdot 10^{-4} \text{ мин}^{-1}$ для АУГАПф/У. Различающиеся на порядок константы для образцов альгината иттрия подтверждают вывод о влиянии минерализации сфер и морфологии частиц фосфатов на скорость изотопного обмена.

В результате экспериментов по изотопному обмену было продемонстрировано, что поверхность твердой фазы для связывания иттрия в образцах АУГАПф и АУГАПс демонстрирует значительно более высокую доступность, по сравнению с изотопным обменом в образцах АУГАПф/У и АУГАПс/У. Механизм сорбции ионов иттрия может быть сложным и включать в себя процессы связывания иттрия с поверхностью частиц, замещения ионов кальция в кристаллической решетке и частичного растворения гидроксиапатита с образованием

нерастворимого фосфата иттрия. В результате может произойти изменение морфологии минеральных включений, что приведет к образованию областей с различной доступностью для изотопного обмена, в частности внутри пор, которые закрываются во время сорбции.

Для медицинского применения сфер на основе альгинатов представляет интерес процесс захвата катиона $^{90}\text{Y}^{3+}$ из водного раствора без добавления в раствор носителя в виде $^{89}\text{Y}(\text{NO}_3)_3$. В ином случае необходимо проводить длительное отмывание сфер от носителя, что приводит к потере части введенной в сферы радиоактивности. Сферы АСа, АУ и их минерализованные аналоги АСаГАПф, АУГАПф и АУГАПс были протестированы на способность захвата $^{90}\text{Y}^{3+}$ из раствора с радиоактивностью 200 кБк в условиях перемешивания. Сферы АУГАПс позволили практически полностью извлечь радиоактивность из раствора, а остальные образцы продемонстрировали приемлемую эффективность мечения около 90% (таблица 17). Не менее важным является исследование выхода радионуклида из сфер, поскольку данный процесс может приводить к облучению здоровых тканей и органов человека при проведении терапии. Для оценки этого процесса, после захвата ^{90}Y раствор над сферами удаляли и заливали водой или физиологическим раствором 0.9% NaCl. Высвобождение рассчитывали по формуле:

$$\text{Высвобождение} = \frac{A_t - A_0}{A_{sp}} \times 100\% \quad (17)$$

где A_t – радиоактивность раствора за время t , A_0 – радиоактивность раствора после выдержки 2 ч принятая за точку отсчета, A_{sp} – радиоактивность раствора, загруженная в сферы в ходе захвата ^{90}Y . Для A_t и A_0 вводилась поправка на распад ^{90}Y .

В водной среде представленные материалы демонстрируют выход радиоактивности в раствор не более 1% в течение 24 ч (таблица 17), что согласуется с представленными выше данными об экспериментах по десорбции с использованием спектрофотометрии. 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, но, тем не менее, значения радиоактивности раствора стабилизируются в течение 48 ч, и дальнейшего выхода радионуклида не происходит. Минерализованные образцы АСаГАПф и АУГАПф оказываются заметно более устойчивы к высвобождению $^{90}\text{Y}^{3+}$ в физиологическом растворе, которое составляет не более 1.5% за 48 часов. Минерализованные сферы АУГАПс высвобождают менее 1% за это время, что является наилучшим результатом среди всех образцов. Предположительно меньший выход радиоактивности из минерализованных сфер обеспечивается более полным связыванием $^{90}\text{Y}^{3+}$ поглощаемого сферами и меньшей долей $^{90}\text{Y}^{3+}$ в поровом пространстве.

Таблица 17. Эффективность мечения $^{90}\text{Y}^{3+}$ образцами АСа, АУ, АСаГАПф, АУГАПф и АУГАПс из водной среды без носителя (200 кБк) и его высвобождение за 24 ч и 48 ч в водной среде и физиологическом растворе 0.9% NaCl при 20 °С.

Образец	Эффективность мечения, %	Высвобождение, 24 ч, %		Высвобождение, 48 ч, %	
	H_2O	H_2O	0.9% NaCl	H_2O	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

Аналогичные исследования были проведены для альгинатных сфер в модели биологической жидкости: сыворотке крови крупного рогатого скота при температуре 36.6 °С, содержащей как схожий соляной фон, так и белки (альбумин и глобулин), которые, согласно литературе, взаимодействуют с альгинатами [187–189]. Как показано на рисунке 43, через 4 суток (1.5 периода полураспада ^{90}Y) неминерализованные сферы АСа и АУ продемонстрировали выделение радионуклидов в размере 4.3±0.3% и 7.4±0.5% соответственно. Увеличение высвобождения радионуклида, вероятно, связано с конкуренцией между альгинатом и белками за связывание с $^{90}\text{Y}^{3+}$. Большое различие в высвобождении между сферами АСа и АУ также обусловлено меньшей устойчивостью последних в сыворотке крови, что было показано в разделе 4.5 (рисунок 38). В то же время минерализованные сферы АСаГАПф, АУГАПф и АУГАПс демонстрируют заметно меньшее высвобождение: 2.9±0.1%, 1.4±0.2% и 1.5±0.2% соответственно. Для сфер АУГАПф значения высвобождения сопоставимы с экспериментами, проведенными в физиологическом растворе, а для АУГАПс выход радионуклида незначительно выше. Таким образом, минерализация сфер усиливает связывание материала с радионуклидом и в наиболее приближенных к человеческому организму условиях.

Стоит отметить, что согласно литературным данным хорошим удержанием радионуклида в носителе считаются значения выше 95% за день [190–193]. Тем не менее для альгинатных сфер необходимо проведение дополнительных *in vitro* и *in vivo* исследований, которые выходят за рамки данной работы. Из представленных в этой главе результатов можно сделать вывод о том, что материалы на основе составов АСаГАПф, АУГАПф и АУГАПс потенциально могут быть применены на практике за счет возможности их «активации» в водной среде $^{90}\text{Y}^{3+}$ без носителя и приемлемых значений высвобождения радионуклида. При этом стоит выделить образец АУГАПс, который также показал близкую к 100% эффективность мечения, что является его несомненным преимуществом, по сравнению с другими минерализованными образцами.

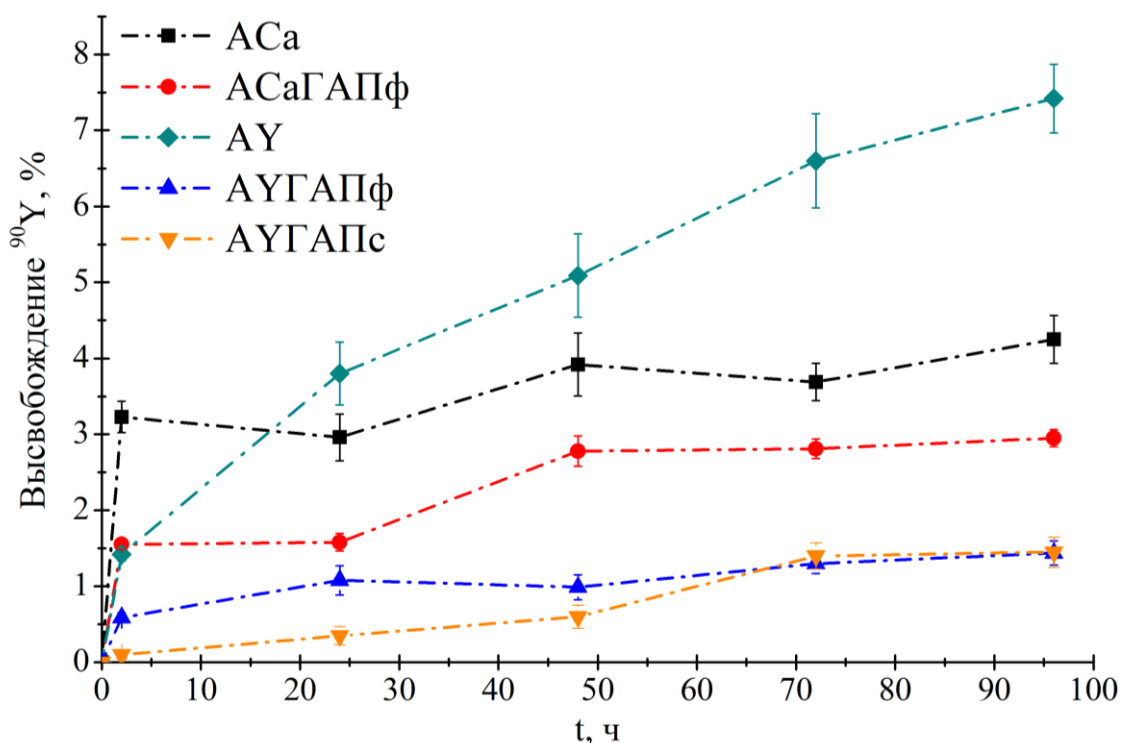


Рисунок 43. Высвобождение ^{90}Y для альгинатных сфер АСа, АСаГАПф, АУ, АУГАПф и АУГАПс в модели биологической жидкости: сыворотка крупного рогатого скота, 36.6°C .

3.7. Внедрение фосфора-32 в альгинатные сферы

Одним из возможных процессов введения ^{32}P в альгинатные сферы является сорбция фосфат-ионов на материал [194]. Сорбцию фосфат-ионов исследовали в растворе K_2HPO_4 и определяли по убыли концентрации дигидрофосфата спектрофотометрически. Сорбцию рассчитывали на ионы PO_4^{3-} аналогично выражению (10). При высоких концентрациях K_2HPO_4 в растворе pH может быть довольно низким, меньше 4.0, что приводит к растворению фосфатов кальция, включенных в сферы. Также стоит отметить, что растворы с таким низким pH не особенно пригодны для медицинского применения, так как требуют более длительного процесса отмывания сфер после сорбции. Поэтому в данном исследовании мы ограничились сорбцией в растворе с концентрацией K_2HPO_4 10 г/л и $\text{pH} = 4.7 \pm 0.1$. Максимально достижимая сорбционная емкость в таких условиях была определена для АFe, АFeCl, АFeГАПс1 и АFeГАПс2 и составила при пересчете на ионы PO_4^{3-} 25 ± 1 мг/г, 21 ± 2 мг/г, 23 ± 1 мг/г и 45 ± 2 мг/г, соответственно. Значения для АFe, АFeCl и АFeГАПс1 сопоставимы с сорбционной емкостью по отношению к фосфатам у других материалов на основе альгината, а емкость состава АFeГАПс2 заметно их превосходит [182,184,195].

Кинетика сорбции исследовалась в растворе с концентрацией 0.5 г/л K_2HPO_4 и $\text{pH} = 5.4 \pm 0.1$, в далеких от насыщения условиях, когда мест связывания значительно больше, чем сорбируемых ионов аналогично кинетическим экспериментам по сорбции Y^{3+} . Кинетические

кривые сорбции, представленные на рисунке 44 А, демонстрируют, что для всех четырех материалов наблюдается быстрое связывание с фосфат-ионами. Наибольшее количество фосфата ($2 - 2.1$ мг/г) сорбируется за первый час эксперимента. Наиболее полное извлечение фосфата (более 85%) из раствора за 24 ч показывают композитные материалы АFeГАПс1 и АFeГАПс2 с сорбцией 2.7 ± 0.1 мг/г и 2.6 ± 0.1 мг/г соответственно. На рисунке 44 Б представлено описание кинетики с помощью линейного уравнения псевдо-второго порядка (11).

Полученные параметры k_2 , q_t и h представлены в таблице 18. Расчетные значения q_e близки к экспериментально полученным максимальным значениям сорбции q_{exp} . Сферы АFeГАПс2 характеризуются наибольшей константой k_2 и начальной скоростью h . Константа скорости k_2 сфер АFeС1 сравнима с аналогичной константой k_2 для АFeГАПс2, но тем не менее сферы АFeС1 заметно проигрывают в максимальной емкости q_{exp} и q_e . Можно предположить, что помимо сорбции фосфатов на альгинате железа происходит их сорбция и на нанокристаллическом гидроксиапатите, добавленном в систему, что положительно сказывается на емкостных и кинетических характеристиках материала.

Сферы АFeГАПс1 обладают высокими емкостями q_{exp} и q_e , однако скорость сорбции оказывается ниже, чем у других материалов. Это можно объяснить тем, что при синтезе композитов с гидроксиапатитом используется менее концентрированный раствор альгината (30 г/л вместо 50 г/л), а также по данным рентгеновской дифракции (рисунок 31) и РСМА (рисунок 30) происходит вымывание фазы гидроксиапатита (см. раздел 3.4). В совокупности это приводит к получению материала меньшей плотности, а значит, имеющего на начальных этапах меньше сорбционных центров. При этом большая итоговая емкость сфер АFeГАПс1 достигается за счет большей доступности объема сферы для сорбции фосфата.

Используя полученные при линеаризации уравнения (рисунок 44 Б) можно оценить время, необходимое для набора 90% сорбционной емкости в данных условиях, что важно для дальнейшего практического применения. Для образцов АFe, АFeС1, АFeГАПс1 и АFeГАПс2 оценочное время составило 126, 127, 247 и 98 мин соответственно. Сравнивая полученные значения с аналогичными параметрами для носителей иттрия, исследованных в данной работе, можно сделать вывод о том, что мечение сфер альгината железа с помощью сорбции фосфат-ионов является более быстрым процессом для набора необходимой терапевтической активности. При этом минерализованные сферы альгината железа АFeГАПс2 являются наиболее подходящими за счет самого быстрого достижения 90% емкости.

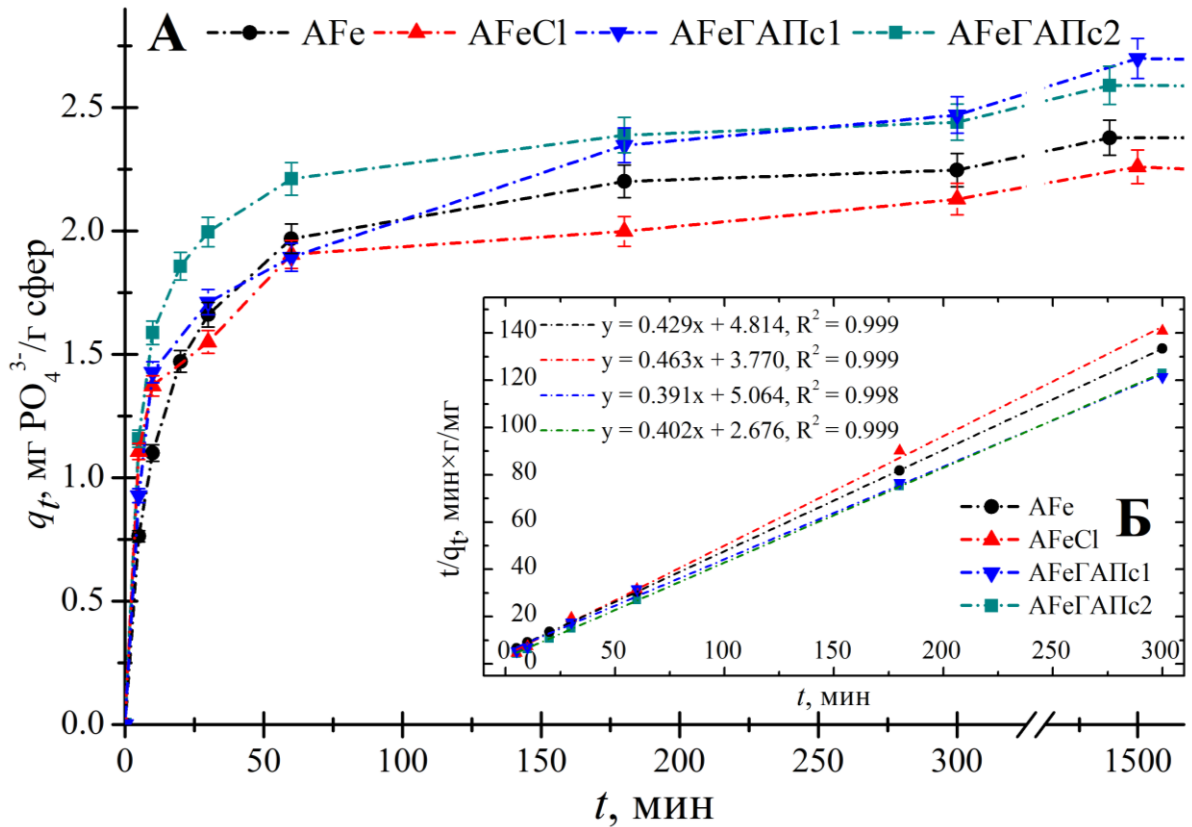


Рисунок 44. А) Кинетика сорбции фосфат-ионов на альгинатных сферах АFe, АFeCl, АFeГАПс1 и АFeГАПс2 в растворе KH_2PO_4 с концентрацией 0.5 г/л при $T = 20$ °С. Б) Обработка данных с помощью уравнения псевдо-второго порядка.

Таблица 18. Параметры сорбции фосфат-ионов (PO_4^{3-}) на альгинатных сферах, рассчитанные по модели псевдо-второго порядка (q_e , k_2 , h) и экспериментальные данные (q_{exp}).

Образец	q_{exp} , мг/г	q_e , мг/г	k_2 , г/мг \times мин	h , мг/г \times мин	R^2
АFe	2.4 ± 0.1	2.33 ± 0.01	0.038 ± 0.003	0.21 ± 0.01	0.9999
АFeCl	2.2 ± 0.1	2.16 ± 0.04	0.057 ± 0.007	0.27 ± 0.04	0.9985
АFeГАПс1	2.7 ± 0.1	2.55 ± 0.05	0.03 ± 0.01	0.20 ± 0.05	0.9977
АFeГАПс2	2.6 ± 0.1	2.49 ± 0.01	0.060 ± 0.004	0.37 ± 0.02	0.9999

Для сфер альгината железа АFe и композитов с гидроксиапатитом АFeГАПс2 была исследована кинетика изотопного обмена $^{31}P - ^{32}P$ в растворе KH_2PO_4 . Чтобы исключить сорбцию на альгинатные сферы, предварительно сорбировали фосфат-ионы в количестве 15 ± 2 мг/г для АFe/Р и 41 ± 2 мг/г для АFeГАПс2/Р соответственно. Степень обмена была рассчитана из уравнения (14). В данной системе изотопный обмен может происходить между ионами $H_2^{32}PO_4^-$ в растворе и ионами $H_2^{31}PO_4^-$, связанными с Fe^{3+} , в полимерной сетке гидрогеля. Для минерализованного образца АFeГАПс2/Р также большую роль должен играть изотопный обмен

с ^{31}P из кристаллической решетки гидроксиапатита. На рисунке 45 представлена кинетика изотопного обмена для образцов АFe/P и АFeГАПс2/P. Изотопный обмен $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$ в альгинате железа АFe/P 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 изотопного обмена.

При минерализации процесс изотопного обмена также, как и в случае ^{90}Y замедляется вследствие диффузионных осложнений, а степень обмена F за время эксперимента достигает значения 0.78 ± 0.03 . Полученная кинетическая зависимость обмена $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$ напоминает кинетику изотопного обмена $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$ в образце АУГАПс/У (рисунок 42) и также может быть описана с помощью уравнения (16) псевдо-второго порядка (рисунок 45 Б). Полученные эффективные константы скорости изотопного обмена равные $(6.7 \pm 0.3) \cdot 10^{-4} \text{ мин}^{-1}$ для АFe/P и $(4.1 \pm 0.1) \cdot 10^{-4} \text{ мин}^{-1}$ для АFeГАПс2/P оказываются на порядок меньше аналогичных констант обмена $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$ в минерализованном альгинате иттрия АУГАПс/У. Можно сделать вывод о том, что диффузия ионов $\text{H}_2^{32}\text{PO}_4^-$ вглубь наночастицы суспензионного гидроксиапатита ГАПс испытывает большие осложнения, по сравнению с аналогичным процессом для $^{90}\text{Y}^{3+}$. Из-за низкой скорости изотопного обмена $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$ в альгинатах использовать этот процесс отдельно от сорбции не представляется возможным, однако присутствие данного процесса во время сорбции может ускорить мечение препарата.

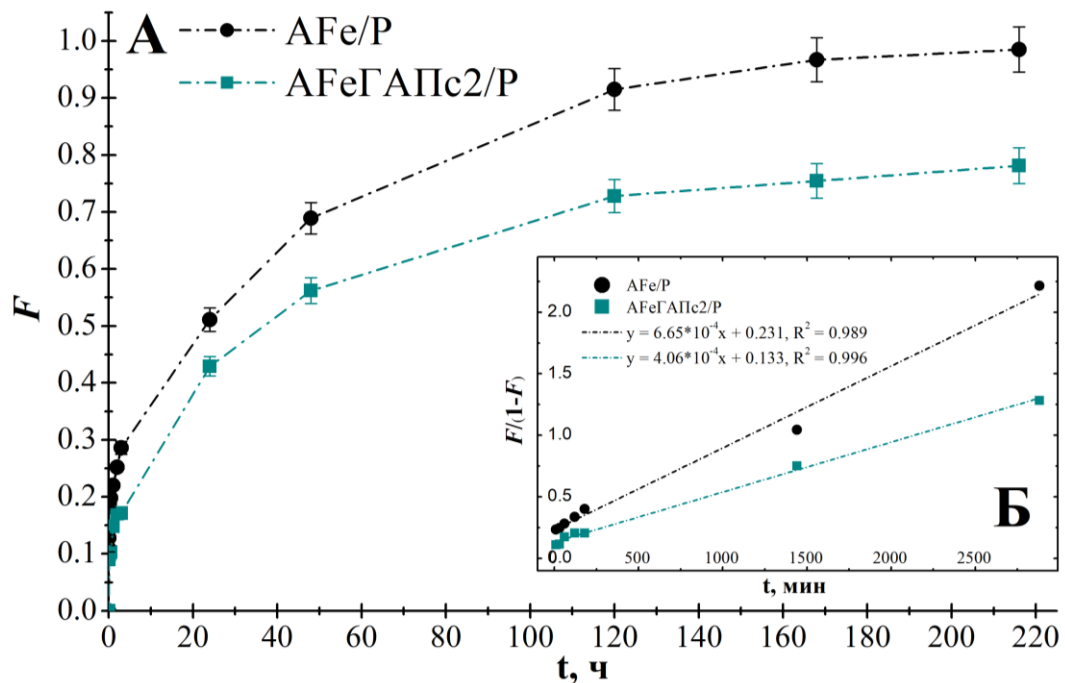


Рисунок 45. А) Кинетика изотопного обмена $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$ для сфер альгината железа АFe/P, на которые было сорбировано $15 \pm 2 \text{ мг/г PO}_4^{3-}$, и минерализованных сфер альгината железа АFeГАПс2/P, на которые было сорбировано $41 \pm 2 \text{ мг/г PO}_4^{3-}$. Б) Обработка данных с помощью уравнения псевдо-второго порядка.

Дальнейшие исследования полученных альгинатов железа были направлены на исследование кинетики связывания с ^{32}P в виде $\text{KH}_2^{32}\text{PO}_4$ в водном растворе без носителя. Использование радионуклидов оправдано возможностью получать кинетические параметры при малых концентрациях радионуклида с высокой точностью, помимо этого, данный подход позволяет обнаружить дополнительное связывание за счет процессов изотопного обмена у фосфорсодержащих образцов. Поскольку в экспериментах концентрация $\text{H}_2^{32}\text{PO}_4^-$ вместе с носителем очень мала и составляет порядка 10^{-10} М, то ^{32}P должен почти полностью переходить в фосфаты, включенные в альгинатный гидрогель. На рисунке 46 представлена кинетика связывания ^{32}P в виде $\text{H}_2^{32}\text{PO}_4^-$ со сферами альгината железа. В качестве параметра связывания использовали эффективность мечения:

$$\alpha = A_{\text{sp}}/A_0, \quad (18)$$

где A_0 – радиоактивность раствора до связывания, Бк; A_{sp} – активность, поглощенная сферами из раствора, Бк.

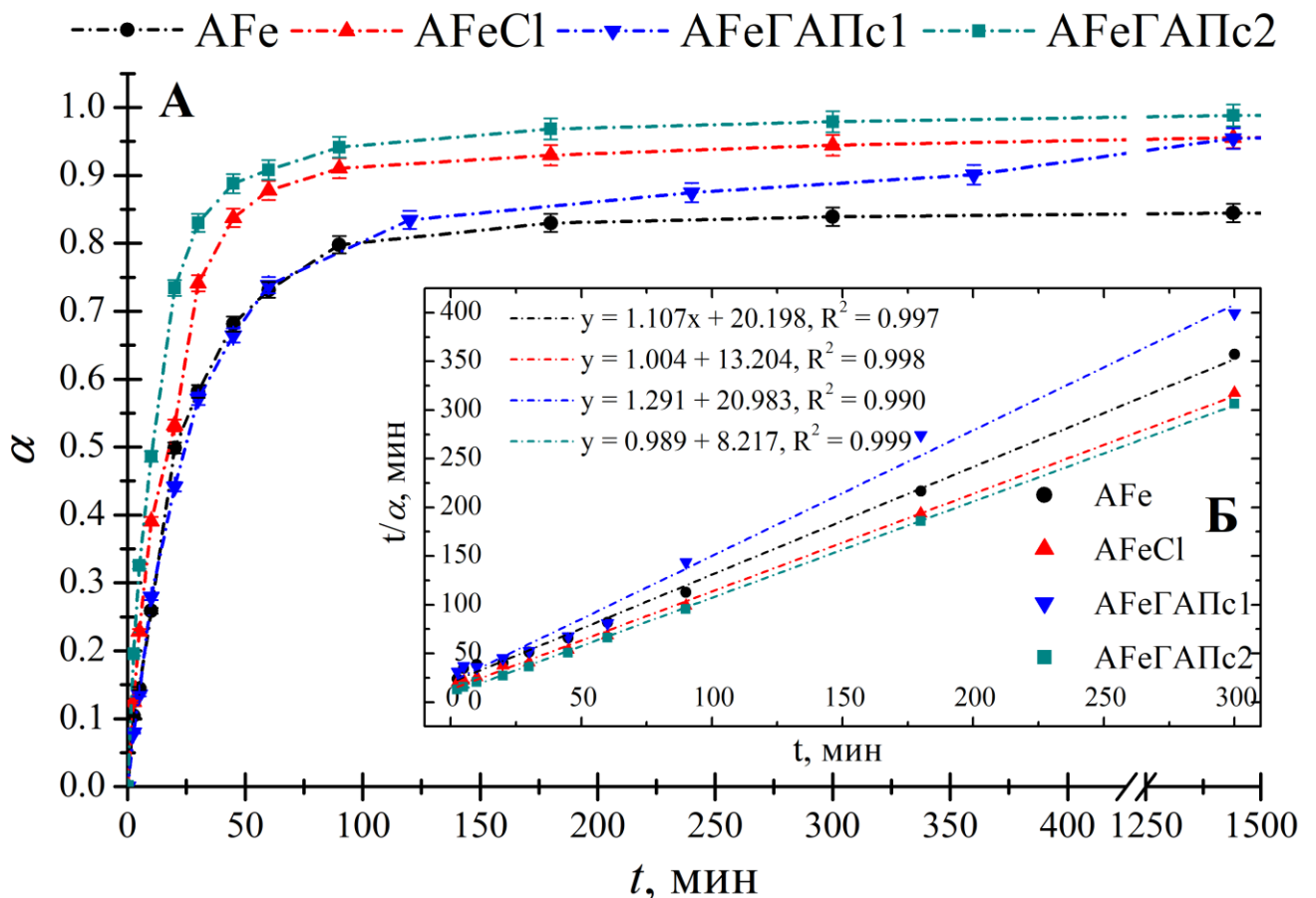


Рисунок 46. А) Кинетика связывания ^{32}P с альгинатными сферами АFe, АFeCl, АFeГАПс1, АFeГАПс2 в растворе $\text{H}_2[^{32}\text{P}]\text{O}_4^-$ при $T = 20$ °С. Б) Обработка данных с помощью уравнения псевдо-второго порядка.

Сферы альгината железа АFe поглощают около 86% радиоактивности из раствора, что свидетельствует о наличии процессов связывания $\text{H}_2^{32}\text{PO}_4^-$ с Fe^{3+} . Тем не менее сферы АFeСl за тоже время практически полностью захватывают ^{32}P из раствора (97%). Фосфорсодержащие сферы АFeГАПс1 достигают максимального связывания в 95% с ^{32}P за значительно большее время, чем остальные сферы, что также, как и в случае сорбции может быть объяснено меньшей доступностью сорбционных центров. Наиболее полное и быстрое связывание наблюдается у фосфорсодержащих сфер АFeГАПс2 (99%), что объясняется наличием в образце по данным рентгеновской дифракции фазы гидроксиапатита, которая добавляет дополнительные места связывания, а также возможность для изотопного обмена.

Кинетических параметры кривых были рассчитаны с помощью уравнений псевдо-второго порядка аналогичных уравнениям (11), (12), (13), где вместо q использовали параметр α . В таблице 19 представлены полученные параметры. Теоретические значения эффективности мечения (α_e) для сфер АFe, АFeСl, АFeГАПс2 согласуются с экспериментальными данными (α_{exp}), в то время как для сфер АFeГАПс1 наблюдается заметное отклонение в меньшую сторону. В данном случае предложенная модель описывает только начальный участок кривой до 90 минут. Далее, вероятно, лимитирующей стадией процесса становится диффузия $\text{H}_2^{32}\text{PO}_4^-$ вглубь сферы и связывание замедляется.

Таблица 19. Параметры связывания ^{32}P с альгинатными сферами, рассчитанные по модели псевдо-второго порядка (α_e , k_2 , h) и экспериментальные данные α_{exp} .

Образец	α_{exp}	α_e	k_2 , мин ⁻¹	h , мин ⁻¹	R^2
АFe	0.86 ± 0.01	0.90 ± 0.02	0.061 ± 0.004	0.049 ± 0.005	0.9971
АFeСl	0.97 ± 0.02	0.99 ± 0.02	0.076 ± 0.003	0.076 ± 0.004	0.9981
АFeГАПс1	0.95 ± 0.02	0.77 ± 0.03	0.080 ± 0.007	0.048 ± 0.009	0.9904
АFeГАПс2	0.99 ± 0.02	1.01 ± 0.01	0.119 ± 0.001	0.122 ± 0.008	0.9996

Рассчитанное для АFeГАПс1 значение начальной скорости h , также и в случае сорбции (таблица 18) является наименьшим и подтверждает меньшую доступность сорбционных центров на начальном этапе процесса. После 90 минут остальные сферы демонстрируют начало плато, которое либо свидетельствует о завершении процесса связывания и достижении равновесия (сферы АFeСl и АFeГАПс2) либо о невозможности диффузии вглубь материала (сферы АFe). Кинетические параметры сфер АFeГАПс2 являются наилучшими среди остальных материалов. При этом разница с другими сферами в этом эксперименте становится более заметной: константа k_2 и скорость h в полтора раза превышает данные параметры для сфер АFeСl и в два раза для сфер АFe. Таким образом, дополнительные места связывания и изотопный обмен ^{31}P – ^{32}P действительно значительно улучшают кинетические параметры захвата радионуклида и получение фосфорсодержащих носителей ^{32}P является оправданным.

После связывания с ^{32}P альгинатные сферы поместили в дистиллированную воду и изотонический раствор для исследования высвобождения радионуклида. Высвобождение ^{32}P рассчитывали по формуле аналогичной выражению (17). В воде наблюдался заметный выход радиоактивности из сфер AFe, в результате за 7 суток происходила потеря около 6% поглощенной радиоактивности (рисунок 47 А). Это может говорить об обратимости сорбции фосфат-ионов на альгинате железа в данных условиях. Сферы AFeCl теряют за это же время около 4%. В растворе над сферами AFeГАПс1 за первые 3 часа происходит заметное увеличение радиоактивности ($\approx 3\%$), что говорит о том, что при связывании часть фосфат-ионов диффундировало в поровое пространство сфер, но не связалось с самим материалом. Затем до конца недели из сфер AFeГАПс1 выходит еще порядка 2% радиоактивности, которые можно отнести непосредственно к десорбции фосфат-ионов.

Наибольшую устойчивость к десорбции в воде демонстрируют сферы AFeГАПс2. На кривой AFeГАПс2 за первый час наблюдается выход около 0.5% радиоактивности, что может быть отнесено к выходу фосфат-ионов из порового пространства, затем в течение недели не происходит каких-либо процессов, которые можно было бы отнести к десорбции ^{32}P . Вероятно, большая часть захваченного сферами ^{32}P оказывается связанной с фазой гидроксиапатита по механизмам сорбции и изотопного обмена. А поскольку в водной среде не присутствуют фосфат-ионы, то и не происходит какого-либо перераспределения радионуклида между средами, и его выхода в раствор. В изотоническом растворе для всех типов сфер в первый час наблюдается выход около 0.5% радиоактивности из порового пространства, однако каких-либо процессов десорбции не наблюдается (рисунок 47 Б). Этот факт согласуется с исследованием авторов W. Pan, X. Liu et al. [182], в котором было продемонстрировано, что повышение ионной силы увеличивает сорбционную способность альгината железа по отношению к фосфат-ионам.

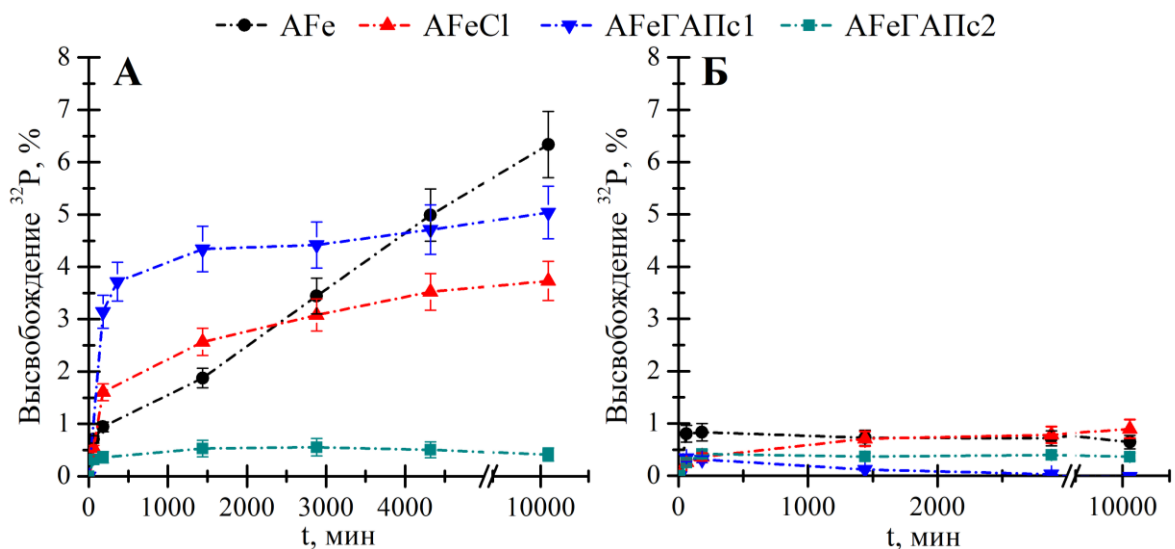


Рисунок 47. Кинетика десорбции ^{32}P из альгинатных сфер AFe, AFeCl, AFeГАПс1, AFeГАПс2 в дистиллированной воде (А) и изотоническом растворе (Б) при $T = 20^\circ\text{C}$.

Для исследования возможности применения альгинатов железа в качестве материалов для радиоэмболизации после мечения их поведение было исследовано в биологической жидкости: сыворотке крови крупного рогатого скота, термостатируемой при 36.6 °С. После 24-часового связывания сфер с ^{32}P в растворе $\text{KN}_2^{32}\text{PO}_4$, их в течение часа отмывали в изотоническом растворе, который согласно рисунку 47 предотвращает десорбцию радионуклида и позволяет вымывать из порового пространства несвязанные с материалом ионы ^{32}P -фосфата. После отмывания радиоактивные сферы помещали в сыворотку крови и измеряли ее радиоактивность.

На рисунке 48 представлена кинетика выхода радиоактивности из влажных сфер в сыворотку крови при 36.6 °С. Для сфер AFe и AFeCl наблюдается заметный выход радиоактивности в раствор, сопровождаемый визуальным разрушением материала, которое начинает наблюдаться уже через 24 часа эксперимента (см. раздел 3.5, рисунок 39). В данном случае не представляется возможным отделить процесс десорбции ^{32}P -фосфата и его связывания с белками от процессов разрушения сфер ввиду сложностей с отбором пробы над сферами.

Содержащие фосфаты сферы AFeГАПс1 и AFeГАПс2 оказываются более устойчивыми в сыворотке крови, и признаки разрушения сфер начинают наблюдаться только спустя неделю исследований (см. раздел 3.5). При этом через 2 часа после начала эксперимента наблюдается некий «всплеск» с выходом 4-5% радиоактивности в сыворотку, затем выделение радиоактивности замедляется, и через 5 суток наблюдается выход около 8-10% введенного ^{32}P . Эти процессы, вероятно, связаны с изотопным обменом между фосфатами в сферах и белками в сыворотке крови. Следующие точки кривых демонстрируют повышение скорости выделения радионуклида, что по всей видимости связано с началом разрушения материала. Через месяц фосфорсодержащие влажные сферы AFeГАПс1 и AFeГАПс2 демонстрируют практически полный выход радионуклида.

Аналогичный эксперимент был проведен с высушенными на воздухе сферами альгината железа ^{32}P (рисунок 48 Б). При высушивании происходит заметное повышение устойчивости материалов в условиях сыворотки крови, что отражается в замедлении процесса выхода радионуклида из сфер. Так даже сферы AFeCl , обладающие наихудшим удерживанием ^{32}P , через 5 суток высвобождают около 40% радионуклида, в то время как во влажном состоянии к этому времени наблюдался 100% выход. Сферы AFe более медленно высвобождают радионуклид, однако наилучшими результатами снова обладают минерализованные сферы AFeГАПс1 и AFeГАПс2 . Так через 24 часа наблюдается выход около 1% радиоактивности из сфер, а к пятым суткам выход составляет не более 3-5%. Затем скорость высвобождения радионуклида из сфер AFeГАПс1 повышается в связи с началом процессов деградации материала. Сферы в высушенном состоянии AFeГАПс2 , содержащие большое количество минеральных включений, остаются устойчивыми к процессам разрушения и десорбции ^{32}P и через месяц измерений

показывают выход около 23% радионуклида. Стоит отметить, что за это время происходит уменьшение радиоактивности препарата в 4 раза в связи с распадом ^{32}P .

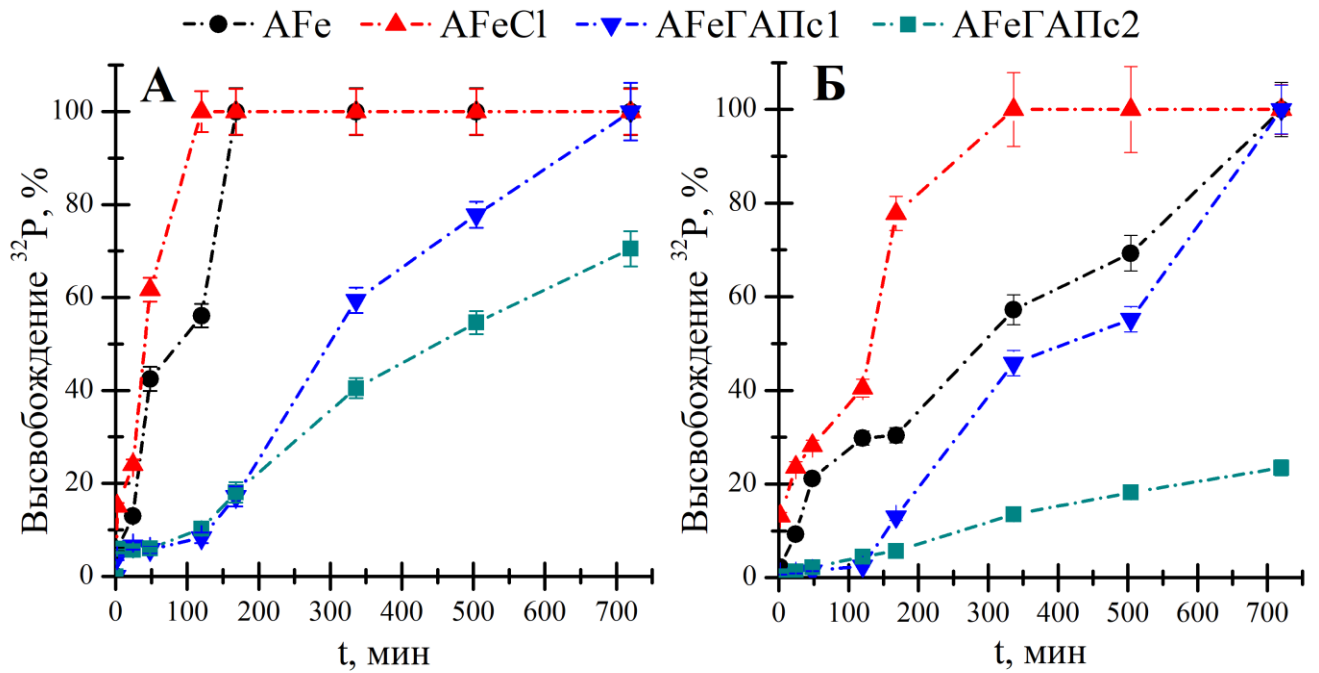


Рисунок 48. Высвобождение ^{32}P из влажных (А) и высушенных сфер (Б) в сыворотке крови при $T = 36.6\text{ }^\circ\text{C}$ после предварительной промывки изотоническим раствором.

Представленные результаты показывают, что в зависимости от состава сферы альгината железа обладают разной разлагаемостью в сыворотке крови, при этом минерализованные сферы оказываются более стабильными и заметно лучше удерживают радионуклид. Тем не менее необходимо дальнейшие исследования *in vivo* для изучения биораспределения радионуклида и окончательного ответа на вопрос о безопасности подобных материалов.

Заключение

В работе рассмотрены различные подходы к включению ^{90}Y и ^{32}P в гидрогели альгината. Это и реакция сшивания альгината для ^{90}Y , и сорбция ^{90}Y или ^{32}P на гидрогелях альгината и минеральных включениях гидроксиапатита, и процессы изотопного обмена $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$ и $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$ на сферах, содержащих стабильные изотопы иттрия и фосфора. Каждый из представленных подходов может быть применен в медицине при производстве носителей ^{90}Y , поскольку они являются достаточно быстрыми с точки зрения кинетики процесса, а иттрий надежно удерживается в матрице гидрогеля за счет образования химических связей. Наиболее быстрым процессом внедрения ^{90}Y является изотопный обмен, однако для практического применения целесообразно использовать комбинацию нескольких способов введения радионуклида в условиях отсутствия носителя, что также было продемонстрировано в работе. В отличие от иттрия для фосфора изотопный обмен является довольно медленным, поэтому для мечения альгинатных сфер ^{32}P рекомендуется сорбция в водном растворе без носителя.

Наиболее важные характеристики исследованных составов представлены в таблице 20. Выбор двухзарядного или трехзарядного катиона (в работе Ca^{2+} или Y^{3+} , Fe^{3+}) в качестве основы для полимерной сетки оказывает значительное влияние на набухание, а значит и на эмболизирующее свойства гидрогелевых сфер. Получение смешанных составов, как и введение минеральных включений, таких как используемый в данной работе гидроксиапатит позволит более тонко настраивать данный параметр и подбирать его под требования конкретной терапии. Модификация альгинатных сфер за счет минерализации улучшает сорбционные свойства материала, однако замедляет процесс изотопного обмена и, как правило, увеличивает размер сфер. Максимальная сорбционная емкость не является ключевым параметром для медицинского применения, более важным является время набора необходимой активности, которое можно оценить, введя параметр времени необходимого для сорбции 90% от максимальной емкости в данных условиях. Наилучшие результаты в 125 мин и 98 мин продемонстрировали минерализованные нанокристаллическим гидроксиапатитом образцы АУГАПс и АFeГАПс2.

Ключевым фактором, влияющим на удерживание радионуклида, является стабильность альгинатного гидрогеля в биологической жидкости. При этом минерализация сфер позволяет заметно повысить как устойчивость сфер в сыворотке крови, так и снизить десорбцию радионуклида. При этом наиболее значимого эффекта удастся добиться минерализацией готовым нанокристаллическим гидроксиапатитом, а при ферментативной минерализации получаемый эффект оказывается менее заметным, что вероятно связано с различающимися количеством минеральной фазы и равномерностью минерализации в этих двух подходах. При этом для материалов носителей ^{90}Y значения удерживания являются приемлемыми для применения в

радиоэмболизации. Для носителей ^{32}P наблюдается заметный выход радионуклида в сыворотке крови, что в совокупности с долгим периодом полураспада ^{32}P не позволяет рекомендовать такие материалы для радиоэмболизации. Однако сферы альгината железа ^{32}P могут быть полезны в качестве основы аппликаторов для поверхностной брахитерапии, в которой не требуется устойчивости в условиях человеческого кровотока, либо для брахитерапии органов с низкой перфузией.

Таблица 20. Ключевые характеристики исследованных составов.

Состав	Нуклид	Эффективность мечения в водном растворе за 24 ч	Выход радионуклида в сыворотке за период полураспада	Набухание в сыворотке крови за 6 ч	Степень обмена F в системе гидрогель-водный раствор	Время достижения 90 % макс. сорбции в кинетическом эксперименте
АСа	^{90}Y	$93 \pm 3\%$	$3.7 \pm 0.2\%$	56 ± 3	-	304 мин (0.7 г/л Y^{3+})
АСаГАПф	^{90}Y	$88 \pm 2\%$	$2.8 \pm 0.2\%$	33 ± 2	-	248 мин (0.7 г/л Y^{3+})
АУ	^{90}Y	$93 \pm 2\%$	$7 \pm 1\%$	21 ± 4	1 (4 ч)	-
АУГАПф	^{90}Y	$91 \pm 2\%$	$1.3 \pm 0.1\%$	8 ± 4	0.6 (5 сут.)	434 мин (0.7 г/л Y^{3+})
АУГАПс	^{90}Y	$99 \pm 1\%$	$1.4 \pm 0.1\%$	-	0.8 (5 сут.)	125 мин (0.7 г/л Y^{3+})
АFe	^{32}P	$84 \pm 2\%$	$57 \pm 3\%$	-	1 (7 сут.)	126 мин (0.5 г/л KH_2PO_4)
АFeCl	^{32}P	$95 \pm 2\%$	$100 \pm 8\%$	-	-	127 мин (0.5 г/л KH_2PO_4)
АFeГАПс1	^{32}P	$95 \pm 2\%$	$45 \pm 3\%$	-	-	247 мин (0.5 г/л KH_2PO_4)
АFeГАПс2	^{32}P	$99 \pm 2\%$	$14 \pm 1\%$	-	0.8 (7 сут.)	98 мин (0.5 г/л KH_2PO_4)

Таким образом, полученные в ходе исследования результаты демонстрируют, что на основе минерализованных альгинатных гидрогелей принципиально возможно создавать потенциальные носители ^{90}Y и ^{32}P для терапии онкологических заболеваний. По сочетанию таких свойств, как скорость сорбции, эффективность мечения и устойчивость к высвобождению радионуклидов можно выделить два наиболее перспективных состава: АУГАПс для ^{90}Y и

АFeГАПс2 для ^{32}P . Однако необходимы дальнейшие испытания в более сложных моделях и эксперименты *in vivo* для оценки эффективности и безопасности данных материалов.

Следует отметить, что описанные в данной работе экспериментальные результаты относятся к сферам миллиметрового размера. На данном этапе размер полученных сфер ограничивает их практическое применение решением задач поверхностной брахитерапии и интраоперационной терапии. В настоящее время существует несколько подходов к получению альгинатных сфер микрометрового размера на основе микроэмульсий и микрофлюидных технологий. Изменение размера сфер приведёт к количественному изменению некоторых физико-химических характеристик материала (скорость связывания радионуклида, удельная ёмкость, устойчивость), которое надо будет оценить. Исследование зависимости физико-химических параметров гидрогелевых сфер от их размеров является отдельной, общей задачей. Данная работа, является её частью и определяет ряд подходов физико-химического и биофизического профиля, являющихся фундаментом её решения.

С другой стороны, выделенные в данной работе составы минерализованных альгинатных сфер наиболее перспективны и для синтеза сфер меньшего размера. Нами уже проводятся исследования, направленные на синтез, характеризацию и определение особенностей мечения альгинатных микросфер с составами аналогичными освещенным в данной работе. Результаты работ по микросферам выходят за рамки данного исследования и будут опубликованы в дальнейшем.

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}Y и ^{32}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}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}P из минерализованных сфер альгината железа в аналогичных условиях за период полураспада составил около 14%.
7. Выбор двух или трехзарядного катиона (Ca^{2+} или Y^{3+} , 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 литературы

1. Yeong C.-H., Cheng M., Ng K.-H. Therapeutic radionuclides in nuclear medicine: current and future prospects // *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2014. Vol. 15, № 10. P. 845–863.
2. Tomblyn M. The role of bone-seeking radionuclides in the palliative treatment of patients with painful osteoblastic skeletal metastases. // *Cancer Control.* 2012. Vol. 19, № 2. P. 137–144.
3. Alcindor T., Witzig T.E. Radioimmunotherapy with yttrium-90 ibritumomab tiuxetan for patients with relapsed CD20+ B-cell non-Hodgkin's lymphoma. // *Curr. Treat. Options Oncol.* 2002. Vol. 3, № 4. P. 275–282.
4. Buchegger F. et al. Long-term complete responses after ¹³¹I-tositumomab therapy for relapsed or refractory indolent non-Hodgkin's lymphoma. // *Br. J. Cancer.* 2006. Vol. 94, № 12. P. 1770–1776.
5. Goldsmith S.J. Radioimmunotherapy of Lymphoma: Bexxar and Zevalin // *Semin. Nucl. Med.* 2010. Vol. 40, № 2. P. 122–135.
6. Hennrich U., Eder M. [¹⁷⁷Lu]Lu-PSMA-617 (Pluvicto™): The First FDA-Approved Radiotherapeutical for Treatment of Prostate Cancer // *Pharmaceuticals.* 2022. Vol. 15, № 10. P. 1292.
7. Prasad V. et al. Overall survival of prostate cancer patients treated with Lu-177 PSMA 617 (Pluvicto®) in a multidisciplinary setting– a single center experience // *J. Nucl. Med.* 2025. Vol. 66, № supplement 1. P. 251559–251559.
8. Waldherr C. et al. The clinical value of [⁹⁰Y-DOTA]-D-Phe1-Tyr3-octreotide (90Y-DOTATOC) in the treatment of neuroendocrine tumours: A clinical phase II study // *Ann. Oncol.* 2001. Vol. 12, № 7. P. 941–945.
9. Gerster-Gilliéron K. et al. 90Y-DOTATOC as a Therapeutic Option for Complex Recurrent or Progressive Meningiomas // *J. Nucl. Med.* 2015. Vol. 56, № 11. P. 1748–1751.
10. FORRER F. et al. Targeted Radionuclide Therapy with 90Y-DOTATOC in Patients with Neuroendocrine Tumors // *Anticancer Res.* 2006. Vol. 26, № 1B. P. 703–707.
11. Hennrich U., Kopka K. Lutathera®: The First FDA- and EMA-Approved Radiopharmaceutical for Peptide Receptor Radionuclide Therapy // *Pharmaceuticals.* 2019. Vol. 12, № 3. P. 114.
12. Urso L. et al. Lutathera® Orphans: State of the Art and Future Application of Radioligand Therapy with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE // *Pharmaceutics.* 2023. Vol. 15, № 4. P. 1110.

13. Wahl R.L. et al. Normal-tissue tolerance to radiopharmaceutical therapies, the knowns and the unknowns // *J. Nucl. Med.* 2021. Vol. 62, № Supplement 3. P. 23S-35S.
14. Curie E. *Madame Curie: A biography* by Eve Curie. Pocket Books, 1966. Vol. 75017.
15. Chargari C. et al. Brachytherapy: An overview for clinicians // *CA. Cancer J. Clin.* 2019. Vol. 69, № 5. P. 386-401.
16. Lim Y.K., Kim D. Brachytherapy: A Comprehensive Review // *Prog. Med. Phys.* 2021. Vol. 32, № 2. P. 25-39.
17. Young H.H. The Use of Radium and the Punch Operation in Desperate Cases of Enlarged Prostate // *Ann. Surg.* 1917. Vol. 65, № 5.
18. Dahiya M. Brachytherapy: A review // *J Crit Rev.* 2016. Vol. 3. P. 6-10.
19. Mohd Khairi N.F.Z., Roszaini N.F., Othman S.A. Principles and Techniques in Handling Brachytherapy - A Short Review // *J. Adv. Ind. Technol. Appl.* Vol. 4, № 1 SE-Articles. P. 75-79.
20. Hannoun-Lévi J.-M. Brachytherapy for prostate cancer: Present and future // *Cancer/Radiothérapie.* 2017. Vol. 21, № 6. P. 469-472.
21. Karius A. et al. Permanent LDR prostate brachytherapy: Comprehensive characterization of seed-dynamics within the prostate on a seed-only level // *Brachytherapy.* 2022. Vol. 21, № 5. P. 635-646.
22. Heintz B.H., Wallace R.E., Hevezi J.M. Comparison of I-125 sources used for permanent interstitial implants. // *Med. Phys.* 2001. Vol. 28, № 4. P. 671-682.
23. Xu Y. ping et al. Bioevaluation study of ³²P-CP-PLLA particle brachytherapy in a rabbit VX2 lung tumor model // *Appl. Radiat. Isot.* 2012. Vol. 70, № 4. P. 583-588.
24. Zhao J. et al. Preliminary study of the biodegradation and the correlation between in vitro and in vivo release of (³²P)-chromic phosphate-poly(L-lactide) seeds. // *Cancer Biother. Radiopharm.* 2013. Vol. 28, № 10. P. 703-708.
25. Shao G. et al. Investigation of Newly Prepared Biodegradable ³²P-chromic Phosphate-poly(lactide-co-glycolide) Seeds and Their Therapeutic Response Evaluation for Glioma Brachytherapy // *Contrast Media Mol. Imaging.* 2018. Vol. 2018, № 1. P. 2630480.
26. Seniwat B. et al. Recent advances in brachytherapy using radioactive nanoparticles: an alternative to seed-based brachytherapy // *Front. Oncol.* 2021. Vol. 11. P. 766407.

27. Salvanou E.-A. et al. A Proof-of-Concept Study on the Therapeutic Potential of Au Nanoparticles Radiolabeled with the Alpha-Emitter Actinium-225 // *Pharmaceutics*. 2020. Vol. 12, № 2.
28. Qi X. et al. Yttrium-90-doped metal–organic frameworks (MOFs) for low-dose rate internal radiation therapy of tumors // *J. Mater. Chem. B*. 2025. Vol. 13, № 18. P. 5466–5481.
29. Rembielak A. et al. Advances in Skin Brachytherapy: Cosmesis and Function Preservation // *Clin. Oncol*. 2023. Vol. 35, № 8. P. 507–515.
30. Poltorak M. et al. Brachytherapy and 3D printing for skin cancer: A review paper // *J. Contemp. Brachytherapy*. 2024. Vol. 16, № 2. P. 156–169.
31. Safigholi H., Meigooni A.S., Song W.Y. Comparison of ^{192}Ir , ^{169}Yb , and ^{60}Co high-dose rate brachytherapy sources for skin cancer treatment // *Med. Phys*. 2017. Vol. 44, № 9. P. 4426–4436.
32. Salgueiro M.J. et al. Bioevaluation of ^{32}P patch designed for the treatment of skin diseases. // *Nucl. Med. Biol*. 2008. Vol. 35, № 2. P. 233–237.
33. Salgueiro M.J. et al. Radioactive treatment of a murine melanoma using a (^{32}P) -patch. // *Nucl. Med. Commun*. 2009. Vol. 30, № 9. P. 706–712.
34. Vivante H. et al. ^{32}P -patch contact brachyradiotherapy in the management of recalcitrant keloids and hypertrophic scars. // *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol*. 2007. Vol. 73, № 5. P. 336–339.
35. Gupta P. et al. Radionuclide therapy of basal cell carcinoma with Phosphorus-32 skin patch // *J. Nucl. Med*. 2009. Vol. 50, № supplement 2. P. 158 LP – 158.
36. Saxena S.K., Kumar Y., Dash A. Nafion–Zirconium Phosphate Composite Membrane: A New Approach to Prepare ^{32}P Patches for Superficial Brachytherapy Applications // *Cancer Biother. Radiopharm*. 2012. Vol. 27, № 4. P. 276–284.
37. Saxena S.K. et al. A Facile, Viable Approach Toward the Preparation of ^{32}P Patches for the Treatment of Skin Cancer // *Cancer Biother. Radiopharm*. 2011. Vol. 26, № 5. P. 665–670.
38. Wang J. et al. A customizable ^{32}P hydrogel applicator for brachytherapy of skin hemangioma based on machine learning and 3D-printing // *J. Mater. Chem. B*. 2025. Vol. 13, № 19. P. 5530–5544.
39. Pashazadeh A. et al. A new 3D printed applicator with radioactive gel for conformal

- brachytherapy of superficial skin tumors. // *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. Annu. Int. Conf.* 2019. Vol. 2019. P. 6979–6982.
40. Birgin E. et al. Contralateral Liver Hypertrophy and Oncological Outcome Following Radioembolization with ⁹⁰Y-Microspheres: A Systematic Review // *Cancers*. 2020. Vol. 12, № 2.
 41. Alrfooh A., Patel A., Laroia S. Transarterial Radioembolization Agents: a Review of the Radionuclide Agents and the Carriers // *Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2021. Vol. 55, № 4. P. 162–172.
 42. Alonso J.C. et al. Economic evaluations of radioembolization with yttrium-90 microspheres in liver metastases of colorectal cancer: a systematic review. // *BMC Gastroenterol*. 2023. Vol. 23, № 1. P. 181.
 43. Kim S.P. et al. A guide to ⁹⁰Y radioembolization and its dosimetry // *Physica Medica*. 2019. Vol. 68. P. 132–145.
 44. Reinders M.T.M. et al. Safety and Efficacy of ¹⁶⁶Ho Radioembolization in Hepatocellular Carcinoma: The HEPAR Primary Study // *J. Nucl. Med.* 2022. Vol. 63, № 12. P. 1891–1898.
 45. Xiao L. et al. Polymer composite microspheres loading ¹⁷⁷Lu radionuclide for interventional radioembolization therapy and real-time SPECT imaging of hepatic cancer // *Biomater. Res.* 2023. Vol. 27, № 1. P. 110.
 46. Pang F. et al. Biodegradable (¹³¹I) Iodine-Labeled Microspheres: Potential Transarterial Radioembolization Biomaterial for Primary Hepatocellular Carcinoma Treatment. // *Adv. Healthc. Mater.* 2020. Vol. 9, № 13. P. e2000028.
 47. Wang X.-D. et al. Dose Delivery Estimated by Bremsstrahlung Imaging and Partition Model Correlated with Response Following Intra-arterial Radioembolization with ³²P-Glass Microspheres for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma // *J. Gastrointest. Surg.* 2010. Vol. 14, № 5. P. 858–866.
 48. Lee E.W. et al. Yttrium-90 selective internal radiation therapy with glass microspheres for hepatocellular carcinoma: current and updated literature review // *Korean J. Radiol.* 2016. Vol. 17, № 4. P. 472–488.
 49. Gulec S.A. Y-90 Radiomicrosphere Therapy for Colorectal Cancer Liver Metastases // *Semin. Nucl. Med.* 2016. Vol. 46, № 2. P. 126–134.

50. Kim G.M. Complications of Radioembolization: Prevention and Management. // *J. Korean Soc. Radiol.* 2025. Vol. 86, № 4. P. 470–482.
51. Bouvry C. et al. Transarterial Radioembolization (TARE) Agents beyond 90Y-Microspheres // *Biomed Res. Int.* 2018. Vol. 2018, № 1. P. 1435302.
52. Wunderlich G. Radioactive Microspheres BT - *Clinical Nuclear Medicine* / ed. Ahmadzadehfar H. et al. Cham: Springer International Publishing, 2020. P. 951–959.
53. Kallini J.R. et al. Comparison of the Adverse Event Profile of TheraSphere® with SIR-Spheres® for the Treatment of Unresectable Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review // *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 2017. Vol. 40, № 7. P. 1033–1043.
54. Doucet J. et al. Advances in Degradable Embolic Microspheres: A State of the Art Review. // *J. Funct. Biomater.* 2018. Vol. 9, № 1.
55. Aleksandar V. et al. Optimization of the radiolabelling method for improved in vitro and in vivo stability of 90Y-albumin microspheres // *Appl. Radiat. Isot.* 2020. Vol. 156. P. 108984.
56. Xie Y. et al. Recent progress of hydrogel-based local drug delivery systems for postoperative radiotherapy // *Front. Oncol.* 2023. Vol. 13.
57. Ullah F. et al. Classification, processing and application of hydrogels: A review // *Mater. Sci. Eng. C.* 2015. Vol. 57. P. 414–433.
58. Peppas N.A. et al. Hydrogels in pharmaceutical formulations // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000. Vol. 50, № 1. P. 27–46.
59. Wang R. et al. Swollen hydrogel nanotechnology: Advanced applications of the rudimentary swelling properties of hydrogels // *ChemPhysMater.* 2024. Vol. 3, № 4. P. 357–375.
60. Peppas N.A., Colombo P. Analysis of drug release behavior from swellable polymer carriers using the dimensionality index // *J. Control. Release.* 1997. Vol. 45, № 1. P. 35–40.
61. Chen Q. et al. In situ sprayed bioresponsive immunotherapeutic gel for post-surgical cancer treatment. // *Nat. Nanotechnol.* 2019. Vol. 14, № 1. P. 89–97.
62. Xu Z., Tang E., Zhao H. An Environmentally Sensitive Silk Fibroin/Chitosan Hydrogel and Its Drug Release Behaviors // *Polymers.* 2019. Vol. 11, № 12. P. 1980.
63. Adepu S., Ramakrishna S. Controlled Drug Delivery Systems: Current Status and Future Directions // *Molecules.* 2021. Vol. 26, № 19. P. 5905.

64. Meng Z. et al. Near-Infrared-Triggered in Situ Gelation System for Repeatedly Enhanced Photothermal Brachytherapy with a Single Dose // *ACS Nano*. 2018. Vol. 12, № 9. P. 9412–9422.
65. Wu Y. et al. Tumor-Targeted Injectable Double-Network Hydrogel for Prevention of Breast Cancer Recurrence and Wound Infection via Synergistic Photothermal and Brachytherapy // *Adv. Sci.* 2022. Vol. 9, № 24. P. 2200681.
66. Rahman M.S. et al. Recent Developments of Carboxymethyl Cellulose // *Polymers*. 2021. Vol. 13, № 8. P. 1345.
67. Orlov A.P., Trofimova T.P., Orlova M.A. Transition metals, their organic complexes, and radionuclides promising for medical use // *Russ. Chem. Bull.* 2022. Vol. 71, № 3. P. 415–429.
68. Spiridonov V. et al. Synthesis of microgels based on carboxymethylcellulose cross-linked with zinc(II) ions and heterocyclic effectors of NO-synthase // *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 2020. Vol. 585. P. 124104.
69. Orlova M.A. et al. Complexes of carboxymethylcellulose with Cu²⁺-ions as a prototype of antitumor agent // *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 2022. Vol. 632. P. 127814.
70. Spiridonov V. V et al. In vitro and in vivo behavior of ²⁰⁷Bi-labelled microgels based carboxymethyl cellulose // *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 2025. Vol. 718. P. 136866.
71. Remminghorst U., Rehm B.H.A. Bacterial alginates: from biosynthesis to applications // *Biotechnol. Lett.* 2006. Vol. 28, № 21. P. 1701–1712.
72. Szekalska M. et al. Alginate: Current Use and Future Perspectives in Pharmaceutical and Biomedical Applications // *Int. J. Polym. Sci.* 2016. Vol. 2016, № 1. P. 7697031.
73. Lee K.Y., Mooney D.J. Alginate: properties and biomedical applications. // *Prog. Polym. Sci.* 2012. Vol. 37, № 1. P. 106–126.
74. Ertesvåg H., Skjåk-Bræk G. Modification of Alginate Using Mannuronan C-5-Epimerases BT - *Carbohydrate Biotechnology Protocols* / ed. Bucke C. Totowa, NJ: Humana Press, 1999. P. 71–78.
75. Lisiecki J., Plazinski W. Conformational Properties of Single-Chain Polyuronates: A Comparative Molecular Simulation Study of Polyglucuronates, Polygalacturonates, and Alginates // *J. Phys. Chem. B.* 2026. Vol. 130, № 3. P. 1090–1105.

76. Kontogiorgos V. Carbohydrates BT - Introduction to Food Chemistry / ed. Kontogiorgos V. Cham: Springer International Publishing, 2021. P. 19–53.
77. Larsen B. et al. Characterization of the alginates from algae harvested at the Egyptian Red Sea coast // Carbohydr. Res. 2003. Vol. 338, № 22. P. 2325–2336.
78. Kumar B., Singh N., Kumar P. A review on sources, modification techniques, properties and potential applications of alginate-based modified polymers // Eur. Polym. J. 2024. Vol. 213. P. 113078.
79. Chen M. et al. Recent advances in alginate-based hydrogels for the adsorption–desorption of heavy metal ions from water: A review // Sep. Purif. Technol. 2025. Vol. 353. P. 128265.
80. Reig-Vano B. et al. Alginate-based hydrogels for cancer therapy and research // Int. J. Biol. Macromol. 2021. Vol. 170. P. 424–436.
81. Witzler M. et al. Evaluating Release Kinetics from Alginate Beads Coated with Polyelectrolyte Layers for Sustained Drug Delivery // ACS Appl. Bio Mater. 2021. Vol. 4, № 9. P. 6719–6731.
82. Nabipour H. et al. New metal-organic framework coated sodium alginate for the delivery of curcumin as a sustainable drug delivery and cancer therapy system // Int. J. Biol. Macromol. 2024. Vol. 259. P. 128875.
83. Criado-Gonzalez M. et al. Photoresponsive Nanometer-Scale Iron Alginate Hydrogels: A Study of Gel–Sol Transition Using a Quartz Crystal Microbalance // Langmuir. 2019. Vol. 35, № 35. P. 11397–11405.
84. Shi J., Alves N.M., Mano J.F. Drug Release of pH/Temperature-Responsive Calcium Alginate/Poly(N-isopropylacrylamide) Semi-IPN Beads // Macromol. Biosci. 2006. Vol. 6, № 5. P. 358–363.
85. Serafin A., Culebras M., Collins M.N. Synthesis and evaluation of alginate, gelatin, and hyaluronic acid hybrid hydrogels for tissue engineering applications. // Int. J. Biol. Macromol. 2023. Vol. 233. P. 123438.
86. Hu C. et al. Ions-induced gelation of alginate: Mechanisms and applications // Int. J. Biol. Macromol. 2021. Vol. 177. P. 578–588.
87. Cao L. et al. Egg-box model-based gelation of alginate and pectin: A review // Carbohydr. Polym. 2020. Vol. 242. P. 116389.
88. Mørch Ý.A. et al. Effect of Ca²⁺, Ba²⁺, and Sr²⁺ on Alginate Microbeads //

- Biomacromolecules. 2006. Vol. 7, № 5. P. 1471–1480.
89. Lu L., Liu X., Tong Z. Critical exponents for sol–gel transition in aqueous alginate solutions induced by cupric cations // *Carbohydr. Polym.* 2006. Vol. 65, № 4. P. 544–551.
 90. Gyurcsik B., Nagy L. Carbohydrates as ligands: coordination equilibria and structure of the metal complexes // *Coord. Chem. Rev.* 2000. Vol. 203, № 1. P. 81–149.
 91. Massana Roquero D. et al. Iron(iii)-cross-linked alginate hydrogels: a critical review // *Mater. Adv. RSC*, 2022. Vol. 3, № 4. P. 1849–1873.
 92. Swamy B.Y., Yun Y.-S. In vitro release of metformin from iron (III) cross-linked alginate–carboxymethyl cellulose hydrogel beads // *Int. J. Biol. Macromol.* 2015. Vol. 77. P. 114–119.
 93. Xu J. et al. Iron (III) cross-linked alginate microneedle patch for xerosis treatment based on controllable photodegradation // *Chem. Eng. J.* 2023. Vol. 474. P. 145672.
 94. Veres P. et al. A redox strategy to tailor the release properties of Fe(III)-alginate aerogels for oral drug delivery // *Carbohydr. Polym.* 2018. Vol. 188. P. 159–167.
 95. Narayanan R.P. et al. Photodegradable Iron(III) Cross-Linked Alginate Gels // *Biomacromolecules*. 2012. Vol. 13, № 8. P. 2465–2471.
 96. Papageorgiou S.K. et al. Heavy metal sorption by calcium alginate beads from *Laminaria digitata* // *J. Hazard. Mater.* 2006. Vol. 137, № 3. P. 1765–1772.
 97. Lucaci A.R. et al. Equilibrium and Kinetics Studies of Metal Ions Biosorption on Alginate Extracted from Marine Red Algae Biomass (*Callithamnion corymbosum* sp.) // *Polymers*. 2020. Vol. 12, № 9.
 98. Khotimchenko M. et al. Removal of yttrium (III) ions from water solutions by alginate compounds // *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2015. Vol. 12, № 10. P. 3107–3116.
 99. Vijaya Y. et al. Modified chitosan and calcium alginate biopolymer sorbents for removal of nickel (II) through adsorption // *Carbohydr. Polym.* 2008. Vol. 72, № 2. P. 261–271.
 100. Benettayeb A. et al. Chemical modification of alginate for enhanced sorption of Cd(II), Cu(II) and Pb(II) // *Chem. Eng. J.* 2017. Vol. 316. P. 704–714.
 101. Gok C., Gerstmann U., Aytas S. Biosorption of radiostrontium by alginate beads: application of isotherm models and thermodynamic studies // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2013. Vol. 295, № 1. P. 777–788.

102. Araujo L.G. de et al. Use of calcium alginate beads and *Saccharomyces cerevisiae* for biosorption of ^{241}Am // *J. Environ. Radioact.* 2020. Vol. 223–224. P. 106399.
103. Sutirman Z.A., Sanagi M.M., Wan Aini W.I. Alginate-based adsorbents for removal of metal ions and radionuclides from aqueous solutions: A review. // *Int. J. Biol. Macromol.* 2021. Vol. 174. P. 216–228.
104. Subaryono S. et al. Alginate Lyases: Sources, Mechanism of Activity and Potencial Application // *Squalen Bull. Mar. Fish. Postharvest Biotechnol.* 2013. Vol. 8, № 3. P. 105.
105. Guarino V. et al. Degradation properties and metabolic activity of alginate and chitosan polyelectrolytes for drug delivery and tissue engineering applications // *AIMS Mater. Sci.* 2015. Vol. 2, № 4. P. 497–502.
106. Fox M.E., Szoka F.C., Fréchet J.M.J. Soluble polymer carriers for the treatment of cancer: the importance of molecular architecture. // *Acc. Chem. Res.* 2009. Vol. 42, № 8. P. 1141–1151.
107. Bouhadir K.H. et al. Degradation of Partially Oxidized Alginate and Its Potential Application for Tissue Engineering // *Biotechnol. Prog.* 2001. Vol. 17, № 5. P. 945–950.
108. Distler T. et al. Ionically and Enzymatically Dual Cross-Linked Oxidized Alginate Gelatin Hydrogels with Tunable Stiffness and Degradation Behavior for Tissue Engineering // *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2020. Vol. 6, № 7. P. 3899–3914.
109. LUAN L.Q. et al. A Study of Degradation Mechanism of Alginate by Gamma-irradiation // *Radioisotopes.* 2009. Vol. 58, № 1. P. 1–11.
110. Patrick P.S. et al. Radio-metal cross-linking of alginate hydrogels for non-invasive in vivo imaging. // *Biomaterials.* 2020. Vol. 243. P. 119930.
111. Gupta A. et al. Development of Alginate-Based Biodegradable Radioactive Microspheres Labeled with Positron Emitter through Click Chemistry Reaction: Stability and PET Imaging Study // *Mol. Pharm.* 2024. Vol. 21, № 10. P. 5005–5014.
112. Azhdarinia A. et al. Regional radiochemotherapy using in situ hydrogel. // *Pharm. Res.* 2005. Vol. 22, № 5. P. 776–783.
113. Holte Ø. et al. Localized internal radiotherapy with ^{90}Y particles embedded in a new thermosetting alginate gel: A feasibility study in pigs // *Nucl. Med. Commun.* 2006. Vol. 27, № 2.
114. Rivera-Muñoz E.M. Hydroxyapatite-Based Materials: Synthesis and Characterization / ed.

Fazel-Rezai R. London: IntechOpen, 2011.

115. Raynaud S. et al. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders // *Biomaterials*. 2002. Vol. 23, № 4. P. 1065–1072.
116. Okuda T. et al. The slow resorption with replacement by bone of a hydrothermally synthesized pure calcium-deficient hydroxyapatite // *Biomaterials*. 2008. Vol. 29, № 18. P. 2719–2728.
117. Dorozhkin S. V. Calcium Orthophosphate (CaPO₄) Containing Composites for Biomedical Applications: Formulations, Properties, and Applications // *Journal of Composites Science*. 2024. Vol. 8, № 6. P. 218.
118. Rincón-López J.A. et al. Synthesis, Characterization and In Vitro Study of Synthetic and Bovine-Derived Hydroxyapatite Ceramics: A Comparison // *Materials*. 2018. Vol. 11, № 3.
119. Mondal S., Pal U., Dey A. Natural origin hydroxyapatite scaffold as potential bone tissue engineering substitute // *Ceram. Int.* 2016. Vol. 42, № 16. P. 18338–18346.
120. Jang C.H. et al. Comparison of osteoconductivity of biologic and artificial synthetic hydroxyapatite in experimental mastoid obliteration // *Acta Otolaryngol.* 2014. Vol. 134, № 3. P. 255–259.
121. Sobczak-Kupiec A. et al. Synthesis and characterization of ceramic - polymer composites containing bioactive synthetic hydroxyapatite for biomedical applications // *Ceram. Int.* 2018. Vol. 44, № 12. P. 13630–13638.
122. Nayak A.K. Hydroxyapatite synthesis methodologies: an overview // *Int. J. ChemTech Res.* 2010. Vol. 2, № 2. P. 903–907.
123. Severin A. et al. Sorption and cytotoxicity of zinc on hydroxyapatite // *Russ. Chem. Bull.* 2017. Vol. 66. P. 9–15.
124. Szterner P. et al. Morphology Control of Hydroxyapatite as a Potential Reinforcement for Orthopedic Biomaterials: The Hydrothermal Process // *Crystals*. 2023. Vol. 13, № 5. P. 793.
125. Hoffmann C., Zollfrank C., Ziegler G. Enzyme-catalysed synthesis of calcium phosphates // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2008. Vol. 19, № 2. P. 907–915.
126. Mobasherpour I. et al. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method // *J. Alloys Compd.* 2007. Vol. 430, № 1. P. 330–333.
127. Sofronia A.M. et al. Thermal and structural characterization of synthetic and natural

- nanocrystalline hydroxyapatite // *Mater. Sci. Eng. C*. 2014. Vol. 43. P. 153–163.
128. Mostafa N.Y. Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite powders prepared by different routes // *Mater. Chem. Phys.* 2005. Vol. 94, № 2. P. 333–341.
129. Kattimani D.V., Kondaka S., Lingamaneni K. Hydroxyapatite—Past, Present, and Future in Bone Regeneration // *Bone Tissue Regen. Insights*. 2016. Vol. 7. P. 9.
130. Bal Z. et al. Bone regeneration with hydroxyapatite-based biomaterials // *Emergent Mater.* 2020. Vol. 3, № 4. P. 521–544.
131. Palmer L.C. et al. Biomimetic Systems for Hydroxyapatite Mineralization Inspired By Bone and Enamel // *Chem. Rev.* 2008. Vol. 108, № 11. P. 4754–4783.
132. Roskopfová O. et al. Study of sorption processes of copper on synthetic hydroxyapatite // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2012. Vol. 293, № 2. P. 641–647.
133. Elkady M.F., Mahmoud M.M., Abd-El-Rahman H.M. Kinetic approach for cadmium sorption using microwave synthesized nano-hydroxyapatite // *J. Non. Cryst. Solids*. 2011. Vol. 357, № 3. P. 1118–1129.
134. Thanh D.N. et al. Removal of copper and nickel from water using nanocomposite of magnetic hydroxyapatite nanorods // *J. Magn. Magn. Mater.* 2018. Vol. 456. P. 451–460.
135. Janusz W., Skwarek E. Study of sorption processes of strontium on the synthetic hydroxyapatite // *Adsorption*. 2016. Vol. 22, № 4. P. 697–706.
136. Severin A. V et al. Sorption and diffusion behavior of actinium(iii) ions in contact with hydroxyapatite as a transporter of medical radionuclides // *Russ. Chem. Bull.* 2020. Vol. 69, № 12. P. 2286–2293.
137. Gopin A. V et al. Features of sorption binding of Y³⁺ ions with hydroxyapatite of various textural organization // *Russ. Chem. Bull.* 2023. Vol. 72, № 7. P. 1505–1511.
138. Dolgova V.K. et al. Enzymatic hydroxyapatite as a carrier for yttrium-90 and copper and ruthenium radionuclides // *Mendeleev Commun.* 2022. Vol. 32, № 2. P. 281–282.
139. Patra S. et al. Radiolabeled nanoporous hydroxyapatite microspheres: An advanced material for potential use in radiation synovectomy // *Mater. Chem. Phys.* 2023. Vol. 295. P. 127115.
140. Badun G.A., Chernysheva M.G. Tritium Thermal Activation Method. Features of Application, Modern Achievements, and Further Development Prospects // *Radiochemistry*. 2023. Vol. 65, № 2. P. 185–197.

141. Goldin A.S., Velten R.J. Application of Tributyl Phosphate Extraction to the Determination of Strontium-90 // *Anal. Chem.* 1961. Vol. 33, № 1. P. 149.
142. Chan E.-S. et al. Prediction models for shape and size of ca-alginate macrobeads produced through extrusion–dripping method // *J. Colloid Interface Sci.* 2009. Vol. 338, № 1. P. 63–72.
143. Tan K.L., Hameed B.H. Insight into the adsorption kinetics models for the removal of contaminants from aqueous solutions // *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 2017. Vol. 74. P. 25–48.
144. Bugaenko L.T., Ryabykh S.M., Bugaenko A.L. A nearly complete system of average crystallographic ionic radii and its use for determining ionization potentials // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2008. Vol. 63, № 6. P. 303–317.
145. Martin R.I., Brown P.W. Phase Equilibria Among Acid Calcium Phosphates // *J. Am. Ceram. Soc.* 1997. Vol. 80, № 5. P. 1263–1266.
146. Zou Z. et al. Dental enamel-like hydroxyapatite transformed directly from monetite // *J. Mater. Chem. The Royal Society of Chemistry*, 2012. Vol. 22, № 42. P. 22637–22641.
147. Mochales C. et al. Dry mechanosynthesis of nanocrystalline calcium deficient hydroxyapatite: Structural characterisation // *J. Alloys Compd.* 2011. Vol. 509, № 27. P. 7389–7394.
148. Popa C.L. et al. Influence of Thermal Treatment on the Antimicrobial Activity of Silver-Doped Biological Apatite // *Nanoscale Res. Lett.* 2015. Vol. 10, № 1. P. 502.
149. Wang Y. et al. Fast precipitation of uniform CaCO₃ nanospheres and their transformation to hollow hydroxyapatite nanospheres // *J. Colloid Interface Sci.* 2010. Vol. 352, № 2. P. 393–400.
150. Lü X.Y. et al. Preparation and Characterization of Natural Hydroxyapatite from Animal Hard Tissues // *Key Eng. Mater.* 2007. Vol. 342–343. P. 213–216.
151. Nosenko V. V et al. Nature of some features in Raman spectra of hydroxyapatite-containing materials // *J. Raman Spectrosc.* 2016. Vol. 47, № 6. P. 726–730.
152. Weinlaender M. et al. Raman microprobe investigation of the calcium phosphate phases of three commercially available plasma-flame-sprayed hydroxyapatite-coated dental implants // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 1992. Vol. 3, № 6. P. 397–401.
153. Chernykh I.N. et al. Using enzymatic synthesis of hydroxyapatite as a technique to develop materials for biomedical applications // *Ceram. Int.* 2024. Vol. 50, № 6. P. 9149–9158.
154. LeGeros R.Z. Biodegradation and bioresorption of calcium phosphate ceramics. // *Clin. Mater.* 1993. Vol. 14, № 1. P. 65–88.

155. Padilla S. et al. Novel Osteoinductive and Osteogenic Scaffolds of Monetite, Amorphous Calcium Phosphate, Hydroxyapatite, and Silica Gel: Influence of the Hydroxyapatite/Monetite Ratio on Their In Vivo Behavior and on Their Physical and Chemical Properties. // ACS Biomater. Sci. Eng. 2020. Vol. 6, № 6. P. 3440–3453.
156. Chernykh I.N. et al. 32P Carriers Based on Hydroxyapatite-Modified Alginate Beads // Radiochemistry. 2025. Vol. 67, № 5. P. 672–679.
157. Hui D., Mayes M.A., Wang G. Kinetic parameters of phosphatase: A quantitative synthesis // Soil Biol. Biochem. 2013. Vol. 65. P. 105–113.
158. Davarcı F. et al. The influence of solution viscosities and surface tension on calcium-alginate microbead formation using dripping technique // Food Hydrocoll. 2017. Vol. 62. P. 119–127.
159. Turte K.I. et al. Synthesis and Structure of Trinuclear Iron Acetate $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6(\text{H}_2\text{O})_3][\text{AuCl}_4] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ // J. Struct. Chem. 2002. Vol. 43, № 1. P. 108–117.
160. LIU Q. et al. YPO₄ nanocrystals: preparation and size-induced lattice symmetry enhancement // J. Rare Earths. 2008. Vol. 26, № 4. P. 495–500.
161. Lai H. et al. UV Luminescence Property of YPO₄:RE (RE = Ce³⁺, Tb³⁺) // J. Phys. Chem. C. 2008. Vol. 112, № 1. P. 282–286.
162. Papageorgiou S.K. et al. Metal–carboxylate interactions in metal–alginate complexes studied with FTIR spectroscopy // Carbohydr. Res. 2010. Vol. 345, № 4. P. 469–473.
163. Sakugawa K. et al. Simplified method for estimation of composition of alginates by FTIR // J. Appl. Polym. Sci. 2004. Vol. 93, № 3. P. 1372–1377.
164. Li B., Chen C. Novel magnetic gel composite based on sodium alginate crosslinked by Yttrium(III) as biosorbent for efficient removal of direct dyes from aqueous solution // J. Dispers. Sci. Technol. 2021. Vol. 43, № 14. P. 2142–2155.
165. Ibáñez J.P., Umetsu Y. Potential of protonated alginate beads for heavy metals uptake // Hydrometallurgy. 2002. Vol. 64, № 2. P. 89–99.
166. Bendtsen S.T., Wei M. Synthesis and characterization of a novel injectable alginate–collagen–hydroxyapatite hydrogel for bone tissue regeneration // J. Mater. Chem. B. 2015. Vol. 3, № 15. P. 3081–3090.
167. Lu L. et al. Rapidly in situ forming biodegradable hydrogels by combining alginate and hydroxyapatite nanocrystal // Sci. China Ser. E Technol. Sci. 2010. Vol. 53, № 1. P. 272–277.

168. Schmid T. et al. Towards chemical analysis of nanostructures in biofilms II: tip-enhanced Raman spectroscopy of alginates // *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. Vol. 391, № 5. P. 1907–1916.
169. Campos-Vallette M.M. et al. Characterization of sodium alginate and its block fractions by surface-enhanced Raman spectroscopy // *J. Raman Spectrosc.* 2010. Vol. 41, № 7. P. 758–763.
170. Klinkaewnarong J. et al. Synthesis and characterization of nanocrystalline HAp powders prepared by using aloe vera plant extracted solution // *Curr. Appl. Phys.* 2010. Vol. 10, № 2. P. 521–525.
171. Gulec S.A. et al. Safety and efficacy of Y-90 microsphere treatment in patients with primary and metastatic liver cancer: The tumor selectivity of the treatment as a function of tumor to liver flow ratio // *J. Transl. Med.* 2007. Vol. 5, № 1. P. 15.
172. Bajpai S.K., Sharma S. Investigation of swelling/degradation behaviour of alginate beads crosslinked with Ca²⁺ and Ba²⁺ ions // *React. Funct. Polym.* 2004. Vol. 59, № 2. P. 129–140.
173. Zhang X., Huang C., Jin X. Influence of K⁺ and Na⁺ ions on the degradation of wet-spun alginate fibers for tissue engineering // *J. Appl. Polym. Sci.* 2017. Vol. 134, № 2.
174. ISMAIL O. Modelling of AAm-co-alginate hydrogels swelling kinetics // *Rev. Roum. Chim.* 2019. Vol. 64. P. 577–583.
175. Chernykh I.N. et al. Novel yttrium-90 carriers based on enzymatically mineralized calcium and yttrium alginate beads // *Surfaces and Interfaces.* 2025. Vol. 69. P. 106691.
176. Zulfikar M.A. et al. Separation of Yttrium from Aqueous Solution Using Ionic Imprinted Polymers // *Russ. J. Non-Ferrous Met.* 2017. Vol. 58, № 6. P. 614–624.
177. Yadav K.K. et al. Role of additives in the matrix of solvent encapsulated beads on its yttrium sorption from aqueous streams // *Sep. Sci. Technol.* 2017. Vol. 52, № 14. P. 2274–2283.
178. Eliwa A.A. Efficacious Recovery of Zirconium and Yttrium Ions from Effluents Using a Gamma-Irradiated Reduced Graphene Oxide Polymeric Composite // *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* 2024. Vol. 34, № 3. P. 1150–1171.
179. Riaz A. et al. Complications Following Radioembolization with Yttrium-90 Microspheres: A Comprehensive Literature Review // *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2009. Vol. 20, № 9. P. 1121–1130.
180. Cianni R. et al. Radioembolisation with ⁹⁰Y-labelled resin microspheres in the treatment of liver metastasis from breast cancer // *Eur. Radiol.* 2013. Vol. 23, № 1. P. 182–189.
181. Torres-Caban R., Vega-Olivencia C.A., Mina-Camilde N. Adsorption of Ni²⁺ and Cd²⁺ from

- Water by Calcium Alginate/Spent Coffee Grounds Composite Beads // *Applied Sciences*. 2019. Vol. 9, № 21.
182. Pan W. et al. Use of iron-crosslinked sodium alginate beads for adsorption of phosphate from solution // *Desalin. Water Treat.* 2022. Vol. 272. P. 108–117.
183. Karthikeyan P., Banu H.A.T., Meenakshi S. Synthesis and characterization of metal loaded chitosan-alginate biopolymeric hybrid beads for the efficient removal of phosphate and nitrate ions from aqueous solution // *Int. J. Biol. Macromol.* 2019. Vol. 130. P. 407–418.
184. Fu G. et al. Efficient removal of nitrogen and phosphorus in aqueous solutions using modified water treatment residuals–sodium alginate beads // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2021. Vol. 28, № 34. P. 46233–46246.
185. Cole D.R., Chakraborty S. Rates and Mechanisms of Isotopic Exchange // *Rev. Mineral. Geochemistry*. 2001. Vol. 43, № 1. P. 83–223.
186. Welch S.A. et al. Kinetic and equilibrium Fe isotope fractionation between aqueous Fe(II) and Fe(III) // *Geochim. Cosmochim. Acta*. 2003. Vol. 67, № 22. P. 4231–4250.
187. Li X., Sun Y., Dong X. Implications from γ -globulin adsorption onto cation exchangers fabricated by sequential alginate grafting and sulfonation // *Chinese J. Chem. Eng.* 2021. Vol. 29. P. 121–125.
188. Benković M. et al. Comparison of the Adsorption and Desorption Dynamics of Biological Molecules on Alginate Hydrogel Microcapsules—The Case of Sugars, Polyphenols, and Proteins // *Gels*. 2024. Vol. 10, № 3.
189. Sáez M.I. et al. Effect of alginate and chitosan encapsulation on the fate of BSA protein delivered orally to gilthead sea bream (*Sparus aurata*) // *Anim. Feed Sci. Technol.* 2015. Vol. 210. P. 114–124.
190. Subramanian S., Vimalnath K. V, Dash A. Preparation and preliminary in vivo evaluation of (166)Ho-labeled microspheres for possible use in radioembolic therapy of liver cancer. // *J. Labelled Comp. Radiopharm.* 2018. Vol. 61, № 6. P. 509–514.
191. Wunderlich G. et al. Comparison of the stability of Y-90-, Lu-177- and Ga-68- labeled human serum albumin microspheres (DOTA-HSAM) // *Nucl. Med. Biol.* 2010. Vol. 37, № 8. P. 861–867.
192. Osborne D.R. et al. Insights into handling and delivery of Y-90 radioembolization therapies //

- Front. Nucl. Med. 2023. Vol. 3. P. 1075782.
193. Dong Y. et al. $^{99m}\text{Tc}/^{90}\text{Y}$ radiolabeled biodegradable gel microspheres for lung shutting fraction assessment and radioembolization in hepatocellular carcinoma theranostics // *Mater. Today Bio.* 2024. Vol. 29. P. 101367.
194. Chernykh I.N. et al. (^{32}P) carriers based on hydroxyapatite-loaded iron alginate beads for nuclear medicine applications. // *Int. J. Biol. Macromol.* 2025. Vol. 334, Pt 2. P. 149222.
195. Kumar I.A., Viswanathan N. Fabrication of metal ions cross-linked alginate assisted biocomposite beads for selective phosphate removal // *J. Environ. Chem. Eng.* 2017. Vol. 5, № 2. P. 1438–1446.

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, проявленный к данной работе. Автор признателен к.х.н. Харланову Андрею Николаевичу за проведение ИК- и КР-спектроскопии образцов и помощь в интерпретации результатов. Автор выражает благодарность к.х.н. Бадуну Геннадию Александровичу за предоставление препарата меченной фосфатазы и д.х.н. Скоблову Юрию Самойловичу за предоставление препарата фосфора-32. За содействие в проведении электронной микроскопии образцов автор благодарит сотрудников центра коллективного пользования «Электронная микроскопия в науках о жизни» МГУ им. М.В. Ломоносова.