

Особенности физико-химических свойств системы гидроксиапатит—рутений в зависимости от стадии введения иона металла в процесс сокристаллизации

А. В. Северин,^а Д. О. Лапшин,^а В. Ю. Ярышев,^а С. В. Максимов,^а Т. П. Трофимова,^{а,б} М. А. Орлова^{а,в}

^аМосковский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Химический факультет, Российская Федерация, 119991 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 3.

E-mail: orlova.radiochem@mail.ru

^бИнститут физиологически активных веществ Российской академии наук, Российская Федерация, 142432 Черноголовка Московской обл., Северный проезд, 1

^вРоссийский научно-исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1

Методами электронной микроскопии (в том числе высокого разрешения), энерго-дисперсионного и рентгенофазового анализов исследовано влияние малых количеств ионов рутения(III) на морфологию, фазовый состав и структуру продуктов, получающихся в условиях синтеза гидроксиапатита (ГАП). Введение в реакционную среду допирующих ионов рутения(III) на различных стадиях образования ГАП влияет на степень агрегации первичных наночастиц ГАП—Ru. В случае введения Ru на финальной стадии наблюдается появление индивидуальных нитевидных наночастиц ГАП—Ru, однако формирования собственной фазы рутения не происходит. Ионы Ru^{III} распределяются преимущественно равномерно по поверхности наночастиц. Сокристаллизационный способ создания композитов ГАП с радионуклидами рутения перспективен для разработки на его основе новых радиофармпрепаратов.

Ключевые слова: рутений, гидроксиапатит, гидроксиапатит—рутений, сокристаллизационный метод синтеза.

Современное развитие ядерной медицины подразумевает получение широкого спектра радионуклидов с различными как радиохимическими, так и биохимическими свойствами. Они могут выполнять диагностическую или терапевтическую роль, хотя наиболее перспективно их совмещение — тераностика. В настоящее время развивается одновременное применение сочетанного (синергического) действия сразу нескольких факторов, например, радионуклида и антиопухолевого агента. В последние годы широко исследуются антиопухолевые агенты на основе рутения, обладающие помимо цитотоксических, еще и антиметастатическими свойствами^{1–3}. Существует и короткоживущий радионуклид рутения — ⁹⁷Ru, с которым получены некоторые перспективные комплексы для позитронно-эмиссионной томографии⁴ (ПЭТ), а радионуклид ¹⁰⁶Ru предлагают использовать в радиоэмболизации или брахиотерапии⁵. Однако доставка радионуклида рутения как с носителем (имеется в виду комплекс с антиопухолевым

агентом), так и без носителя требует детального изучения⁶. Очень часто метастазы возникают в костях, в связи с чем гидроксиапатит (ГАП) особенно востребован в качестве носителя таких препаратов. Введение радионуклида в ГАП может осуществляться различными способами, однако наибольший интерес представляет метод осаждения, позволяющий достаточно просто вводить ионы металла (радионуклида) в разное время процесса образования ГАП и (или) после окончания процесса (сорбция)⁷. Кроме того, перспективным является метод введения радионуклида в процессе формирования ферментативного ГАП (ГАП_Е)⁸, имеющего значительно более высокую сорбционную емкость. Оба метода позволяют варьировать размер частиц и их сорбционную поверхность, а также контролировать процессы образования собственной фазы радионуклида.

Исследованы два разных способа допирования ГАП рутением. Первый способ — связывание ионов рутения с готовым ГАП (т.е. сорбци-

онный процесс), второй — добавление рутения непосредственно в сферу реакции образования ГАП (так называемый сокристаллизационный метод), при этом ионы рутения либо добавляют непосредственно в процессе получения ГАП, либо вносят в исходную смесь реагентов вместе с раствором ионов кальция. В зависимости от выбора метода синтеза морфология, размер частиц, распределение и содержание рутения, а также другие свойства заметно меняются. Такой подход применялся для получения нанокатализаторов⁹. Для целей ядерной медицины изучена¹⁰ методика сорбционного связывания радионуклида ^{103}Ru (более долгоживущего, чем ^{97}Ru , он служил в качестве модельного) с ГАП_Е, полученным ферментативным способом. Использовали радионуклид с носителем, т.е. $^{103}\text{Ru}(\text{Ru})\text{Cl}_3$, и без носителя, $^{103}\text{RuCl}_3$. Сорбционная способность ГАП_Е по отношению к рутению с носителем оказалась меньше, чем по отношению к иттрию и меди (в этих же условиях). При связывании ^{103}Ru без носителя с ГАП наблюдалась очень быстрая сорбция, которая, однако, в физиологическом растворе сопровождалась частичной десорбцией.

Цель данной работы — выявление особенностей фазообразования, морфологии и распределения иона рутения в системе ГАП—рутение при его сокристаллизационном связывании с ГАП. Необходимость подбора наиболее удобных условий введения рутения в ГАП с получением образцов с различными физико-химическими характеристиками требует рассмотрения, как изменяются указанные выше параметры продукта в зависимости от того, на какой стадии синтеза ГАП вводится допирующий ион металла.

Экспериментальная часть

Синтез модифицированного рутением гидроксипатита проводили следующим образом: раствор RuCl_3 ($\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, квалификации «ч.») вводили в реакционную смесь на разных стадиях формирования ГАП по хорошо отработанной методике^{7,11}.

При синтезе эталонного образца ГАП (ГАП-0, без рутения) использовали навеску CaO (5 г), которую помещали в реактор с рН-электродами, добавляли 200 мл дистиллированной воды и реакционную массу перемешивали с помощью мешалки ER-10 (Германия) до установления стабильных показателей рН (12.3—12.5). В полученную суспензию $\text{Ca}(\text{OH})_2$ подавали H_3PO_4 (29 мас.%) через керамический капилляр с помощью перистальтического насоса. За кинетикой синтеза при комнатной температуре следили с помощью рН-метра «3305 ELIT» (Великобритания).

Окончание реакции фиксировали при достижении значения рН 6.9—6.8.

При синтезе образца ГАП— Ru^1 раствор хлорида рутения по каплям вводили в суспензию CaO до начала добавления ортофосфорной кислоты, т.е. в суспензию $\text{Ca}(\text{OH})_2$, при этом значение рН в реакторе понижалось от 12 до 11, после чего включали подачу H_3PO_4 при постоянном перемешивании. Окончание реакции фиксировали при рН 6.7.

При синтезе образца ГАП— Ru^2 раствор хлорида рутения вводили во время формирования ГАП (точка начала резкого падения рН, что соответствует перегибу кинетической кривой, как и в работе¹¹). Раствор хлорида рутения добавляли по каплям при рН 11.1, после чего величина рН снижалась до 10. Синтез окончился при рН 6.0.

При синтезе образца ГАП— Ru^3 раствор рутения вводили практически после получения ГАП. Для этого раствор хлорида рутения вносили в суспензию по каплям при рН 7.8, далее значение рН снижалось до 7.5. Затем реакционную массу перемешивали еще 20 мин без добавления кислоты.

Для исследования полученных препаратов методом РФА проводили разделение маточного раствора и твердой фазы суспензии путем фильтрации на мембранном фильтре. Осадок несколько раз промывали дистиллированной водой, после чего его высушивали при температуре 80 °С до постоянной массы, растирали в фарфоровой ступке, и этот твердый порошок использовали при исследовании методом РФА.

В результате получены образцы водных суспензий: ГАП-0 (с содержанием твердой фазы $X = 3.23$ мас.%), ГАП— Ru^1 ($X = 4.06$ мас.%), ГАП— Ru^2 ($X = 4.14$ мас.%) и ГАП— Ru^3 ($X = 4.02$ мас.%). Во всех экспериментах задаваемое мольное соотношение $\text{Ca} : \text{Ru} = 10 : 1$.

Фазовый состав определяли методом РФА («ДРОН-1», Россия, сфокусирован по Брэггу—Брентано, детектор $\text{Co-K}\alpha$, $\lambda = 0.179021$ нм, режим пошагового сканирования в интервале углов $2\theta = 10\text{—}80^\circ$ с шагом $0.1\text{—}0.05^\circ$, время экспозиции на одну точку 3—5 с).

Морфологию нанокристаллов изучали методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ, «JEM-1011B», Япония, разрешение 0.3 нм) и просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения (ПЭМ-ВР, «Jeol JEM-2100 F», Япония) с локальным энерго-дисперсионным анализом (EDS).

Концентрацию ионов рутения в маточном растворе после синтеза определяли масс-спектрометрическим методом на спектрометре «Plasma Quant MS Elite» (Германия).

Химический анализ на содержание кальция и фосфора в водных растворах проводили с помощью специальных аналитических наборов для определения кальция и фосфора по инструкции, рекомендованной производителем. Концентрацию кальция и фосфора в водных растворах рассчитывали с учетом данных спектрофотометрических измерений при дли-

не волны 575 нм (для кальция) и 340 нм (для фосфат-иона) на спектрофотометре «Shimadzu UV-1280» (Япония).

Обсуждение полученных результатов

Модифицированные апатиты, благодаря своей способности «включать» в структуру различные ионы переходных металлов, вызывают большой интерес в разных областях химии. Выделяют два типа соединений: получаемые при ионном обмене между кальцием и ионом переходного металла и в результате образования новой фазы на поверхности апатита. Для Ru-содержащих апатитов были предложены различные составы и структуры. Вероятно, одиночные атомы Ru³⁺, расположенные на поверхности ГАП, окружены одним хлорид-ионом и четырьмя атомами кислорода от двух групп PO₄³⁻ и слабо скоординированы с аква-лигандом. Моноядерные центры Ru³⁺ без хлорида могут находиться на внешней

границе кристаллов апатита. Предполагается также, что в ГАП—Ru с низкой концентрацией рутения активными участками являются ионы Ru(OH)²⁺, стабилизированные атомами кислорода фосфатных групп и адсорбированными молекулами воды. Однако точный механизм сорбции рутения не установлен¹².

Дифрактограммы всех полученных образцов представлены на рисунке 1. Видно, что положение основных пиков идентично пикам на дифрактограмме базового образца ГАП(0). Соотнесение положения экспериментальных пиков в программе QualX с эталонными данными также показало хорошее согласие. Таким образом, в наших образцах нет отдельной фазы, содержащей рутений. Отсутствие рефлексов собственной фазы при относительно небольших количествах допирующего катиона наблюдали во многих работах (см., например, лит.¹²).

Химический анализ (табл. 1) показывает, что в маточном растворе ионы рутения практиче-

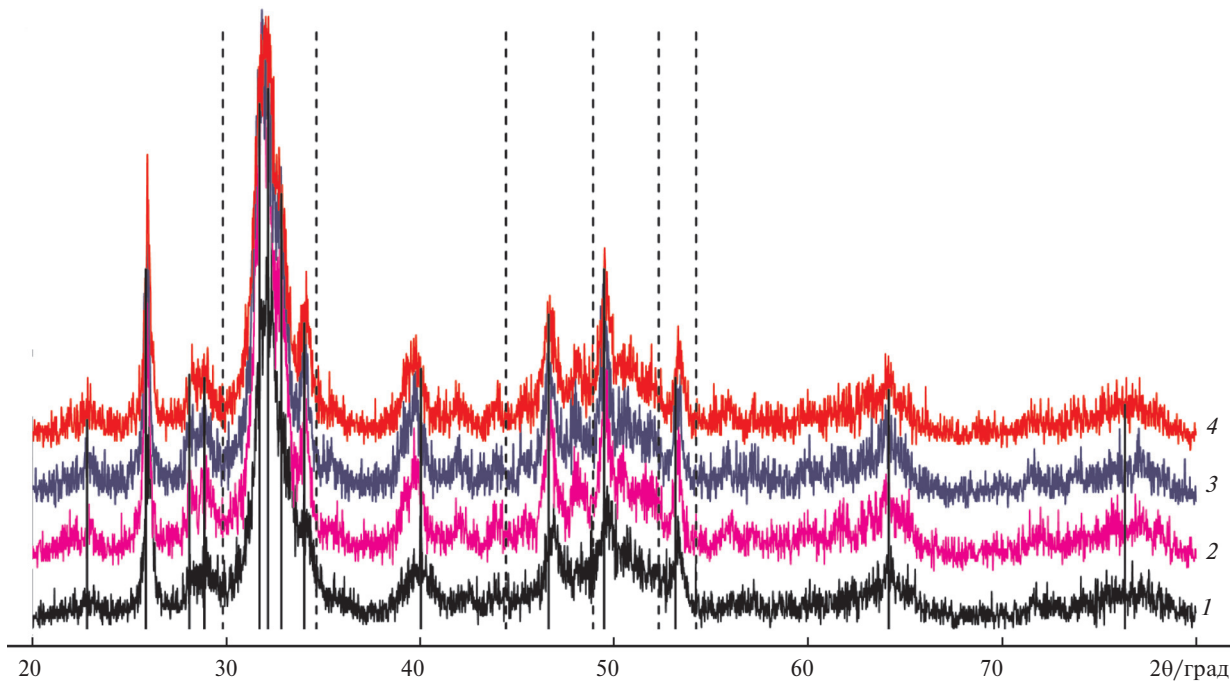


Рис. 1. Дифрактограммы образцов ГАП-0 (1), ГАП—Ru¹ (2), ГАП—Ru² (3) и ГАП—Ru³ (4) (вертикальные сплошные линии отвечают эталонным рефлексам для ГАП, вертикальные штриховые линии — рефлексам для RuCl₃).

Таблица 1. Содержание (моль • л⁻¹) ионов кальция, рутения и фосфат-ионов в маточных растворах экспериментальных суспензий ГАП—Ru и в твердой фазе (C₁ и C₂ соответственно)

Образец	Ca ²⁺		PO ₄ ³⁻		Ru ³⁺	
	C ₁ • 10 ³	C ₂ • 10 ²	C ₁ • 10 ³	C ₂ • 10 ²	C ₁ • 10 ⁹	C ₂ • 10 ³
ГАП—Ru ¹	3.46±0.02	8.85±0.01	1.84±0.02	5.10±0.01	3.66±0.01	1.00±0.02
ГАП—Ru ²	3.47±0.02	8.85±0.01	1.73±0.02	3.98±0.01	2.55±0.02	1.10±0.01
ГАП—Ru ³	3.48±0.02	8.85±0.01	0.22±0.02	3.51±0.01	98.7±0.5	1.13±0.01

ски отсутствуют, зато наблюдается избыток кальция.

Морфологический анализ с помощью ПЭМ не выявил существенного изменения формы и габитуса образовавшихся кристаллов. Как и во многих предыдущих работах, кристаллы представляют из себя вытянутые пластинчатые наночастицы^{7,11}. Обработка данных ПЭМ позволила получить функции распределения частиц ГАП—Ru по длине и ширине (рис. 2) и установить тенденцию к уменьшению толщины кристаллов при фактической неизменности их длины (см. рис. 2). Рассчитанные средние значения размеров нанокристаллов (табл. 2) также подтверждают подобную тенденцию. Мы предполагаем, что введение рутения оказывает влияние на агрегацию первичных частиц ГАП (рис. 3), степень которой уменьшается либо за счет замещения подвижного кальция на поверхности ГАП и несовместимости отдельных наночастиц, либо за счет подкисления и растворения кристаллических мостиков между кристаллами, вплоть до образования отдельных нитевидных частиц в образце ГАП—Ru³ (рис. 4). Их размеры существенно меньше размеров остальных образцов (см.

Таблица 2. Средние значения длины и ширины нанокристаллов

Образец	Длина	Ширина
		нм
ГАП(0)	130±15	35±3
ГАП—Ru ¹	133±13	22±4
ГАП—Ru ²	125±14	20±4
ГАП—Ru ³	120±15	16±3
Нитевидные частицы	47±5	4±1

рис. 2, кривая 5, табл. 2). Образование подобных нитевидных частиц наблюдалось нами неоднократно в условиях внешнего воздействия на реакционную смесь в ходе синтеза или при фор-

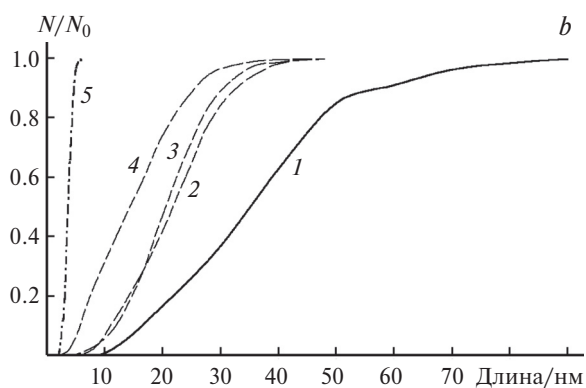
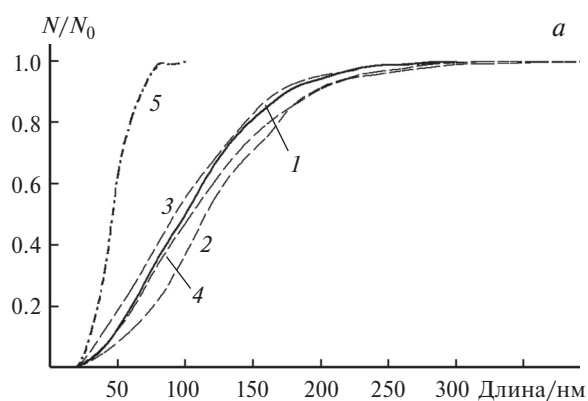


Рис. 2. Функции распределения нанокристаллов по длине (a) и ширине (b) для образцов ГАП-0 (1), ГАП—Ru¹ (2), ГАП—Ru² (3), ГАП—Ru³ (4), нитевидные частицы в образце ГАП—Ru³ (5).

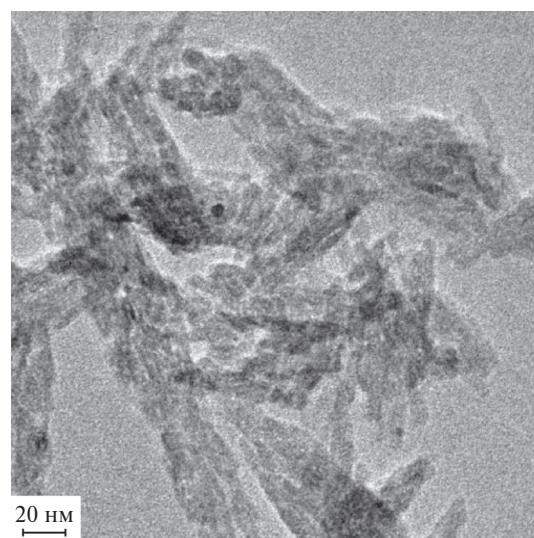


Рис. 3. Агрегация первичных наночастиц образца ГАП—Ru¹ (по данным ПЭМ-ВР).

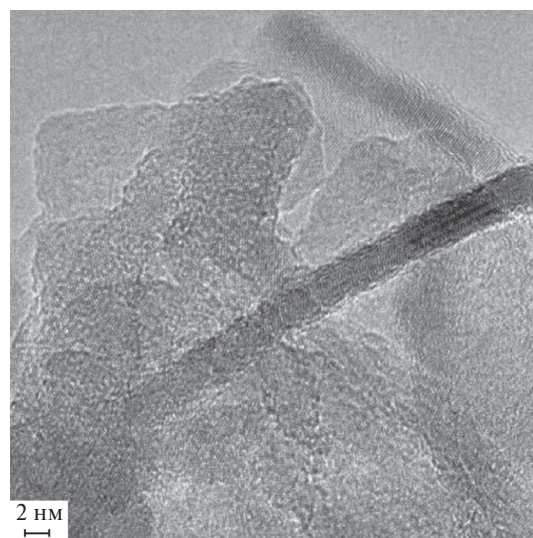


Рис. 4. Индивидуальные нитевидные частицы, присутствующие в образце ГАП—Ru³ (по данным ПЭМ-ВР).

мирования ГАП в белковой среде^{13,14}. Кроме того, детальное исследование показывает, что наряду с кристаллами встречаются и аморфизо-

ванные частицы, что может влиять на ширину пиков дифрактограмм.

При анализе выбранных оптических полей в ПЭМ-ВР методом EDS не было найдено отдельных частиц, относящихся к собственной рутенийсодержащей фазе (хотя сами ионы рутения в образцах присутствуют), что дополняет данные РФА. Дополнительно проведен анализ с картированием поверхности агрегатов частиц по основным элементам (рис. 5). Как видно, ионы рутения распределены по поверхности (и, возможно, по всему объему) агрегата так же равномерно, как и ионы кальция. Подобное распределение допирующего иона рутения наблюдали и авторы работы⁹.

Таким образом, введение ионов рутения на разных стадиях формирования ГАП мало влияет на фазовый состав получаемых образцов. При этом ионы рутения равномерно распределены по поверхности нанокристаллов. Ни один из использованных нами методов физико-химического анализа не показал образования собственной фазы рутения. Возможно, часть хлорид-ионов, присутствующих в системе, ушло в твердую фазу, однако их количество настолько мало, что ни на структуру, ни на морфологию образцов они не влияют. Однако введение допирующего иона в систему приводило к некоторому изменению морфологии: к постепенной дезагрегации первичных частиц вплоть до образования нитевидных нанокристаллов при введении рутения на последней стадии формирования ГАП. Очевидно, что такой сокристаллизационный способ создания комплекса ГАП—Ru имеет заметные преимущества по сравнению с сорбционным и его можно рекомендовать как базовый при разработке перспективных радиофармпрепаратов на основе ГАП и радионуклидов рутения для ядерной медицины.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания № 122012600116-4 «Получение и использование радионуклидов и меченных соединений для целей ядерной медицины, изучения биологически значимых процессов и взаимодействия живых организмов с ионизирующим излучением».

Соблюдение этических норм

Настоящая статья не содержит описания исследований с использованием в качестве объектов животных и людей.

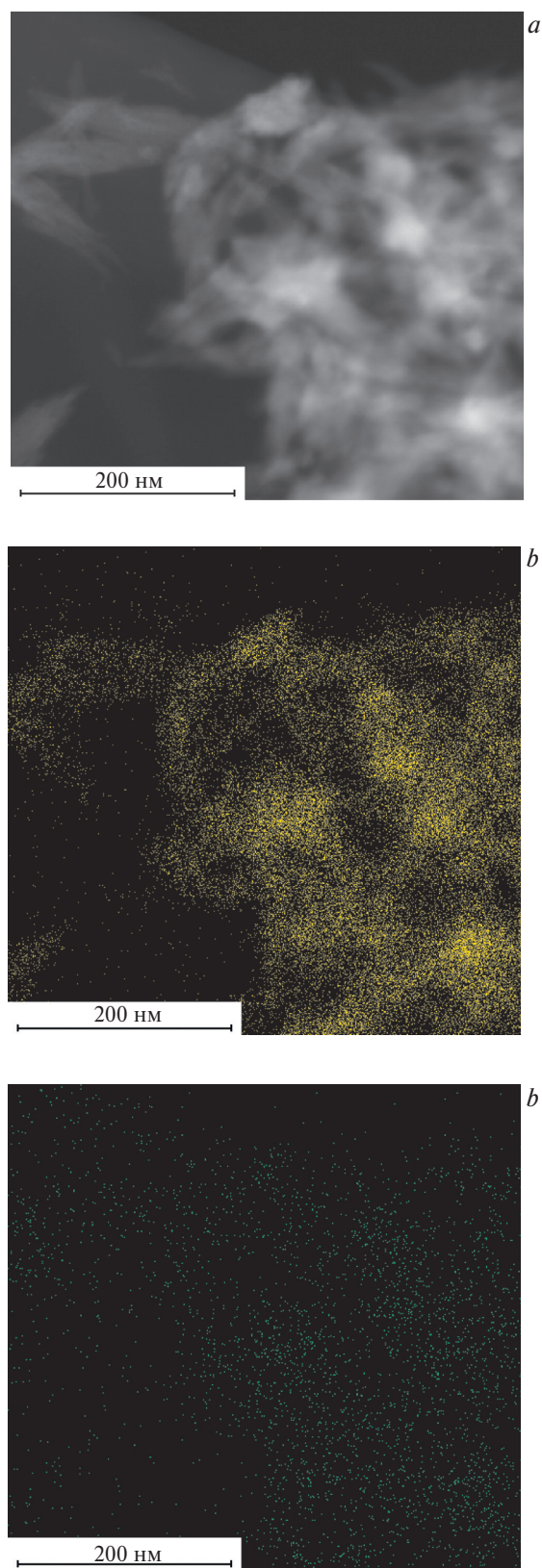


Рис. 5. Картирование поверхности образца ГАП—Ru² (a) по элементам Ca (b) и Ru (c).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в финансовой или какой-либо иной сфере.

Список литературы

1. Y. Lu, D. Zhu, Q. Le, Y. Wang, W. Wang, *Nanoscale*, 2022, **14**, 16339; DOI: 10.1039/d2nr02994d.
2. X-G. Bai, Y. Zheng, J. Qi, *Front. Pharmacol.*, 2022, **13**, 1018951; DOI: 10.3389/fphar.2022.1018951.
3. А. П. Орлов, Т. П. Трофимова, М. А. Орлова, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2022, **71**, 415 [A. P. Orlov, T. P. Trofimova, M. A. Orlova, *Russ. Chem. Bull.*, 2022, **71**, 415; DOI: 10.1007/s11172-022-3429-y].
4. N. E. Borisova, M. A. Orlova, V. A. Knizhnikov, V. K. Dolgova, M. D. Reshetova, A. P. Orlov, *Mendeleev Commun.*, 2021, **31**, 207; DOI: 10.1016/j.mencom.2021.03.020.
5. I. Zuba, M. Zuba, M. Piotrowski, A. Pawlukoj, *Appl. Radiat. Isot.*, 2020, **162**, 109176; DOI: 10.1016/j.apradiso.2020.109176.
6. В. Ю. Ярышев, А. В. Северин, М. А. Орлова, *Изв. АН. Сер. хим.*, 2023, **72**, 2031 [V. Y. Yaryshev, A. V. Severin, M. A. Orlova, *Russ. Chem. Bull.*, 2023, **72**, 2031; DOI: 10.1007/s11172-023-3996-6].
7. И. В. Мелихов, В. Ф. Комаров, А. В. Северин, В. Е. Божевольнов, В. Н. Рудин, *Докл. АН*, 2000, **373**, 355 [I. V. Melikhov, V. F. Komarov, A. V. Severin, V. E. Bozhevol'nov, V. N. Rudin, *Dokl. Phys. Chem.*, 2000, **373**, 125].
8. М. А. Орлова, А. Л. Николаев, Т. П. Трофимова, А. П. Орлов, А. В. Северин, С. Н. Калмыков, *Вестн. РГМУ*, 2018, № 6, 94; DOI: 10.24075/vrgmu.2018.075 [M. A. Orlova, A. L. Nikolaev, T. P. Trofimova, A. P. Orlov, A. V. Severin, S. N. Kalmykov, *Bull. RSMU*, 2018, **6**, 86; DOI: 10.24075/brsmu.2018.075].
9. T. Gao, Y. Yin, W. Fang, Q. Cao, *Mol. Catal.*, 2018, **450**, 55–64; DOI: 10.1016/j.mcat.2018.03.006.
10. V. K. Dolgova, A. V. Gopin, A. L. Nikolaev, A. P. Orlov, T. P. Trofimova, M. A. Orlova, *Mendeleev Commun.*, 2022, **32**, 281–282; DOI: 10.1016/j.mencom.2022.03.043.
11. А. В. Северин, Д. А. Панкратов, *Журн. неорганической химии*, 2016, **61**, 279 [A. V. Severin, D. A. Pankratov, *Russ. J. Inorg. Chem.*, 2016, **61**, 265; DOI: 10.1134/S0036023616030190].
12. K. Tönsuaadu, M. Gruselle, F. Villain, R. Thouvenot, M. Peld, V. Mikli, R. Traksmäa, P. Gredin, X. Carrier, L. Salles, *J. Colloid Interface Sci.*, 2006, **304**, 283; DOI: 10.1016/j.jcis.2006.07.079.
13. A. L. Nikolaev, A. V. Gopin, A. V. Severin, V. N. Rudin, M. A. Mironov, N. V. Dezhkunov, *Ultrasonics Sonochem.*, 2018, **44**, 390; DOI: 10.1016/j.ultsonch.2018.02.047.
14. А. В. Северин, И. Т. Смыков, В. Е. Божевольнов, *Вест. Моск. ун-та. Сер. хим.*, 2014, № 1, 51 [A. V. Severin, I. T. Smykov, V. E. Bozhevolnov, *Mosc. Univ. Chem. Bull.*, 2014, **69**, 45; DOI: 10.3103/S0027131414010088].

Поступила в редакцию 9 октября 2023;
после доработки — 20 декабря 2023;
принята к публикации 21 декабря 2023