

Научная статья

УДК 666.266.62+662.613.136+ 542.06

doi:10.37614/2949-1215.2023.14.3.014

МИКРОСФЕРИЧЕСКИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ

**Татьяна Александровна Верещагина¹, Екатерина Анатольевна Кутихина²,
Василиса Валерьевна Красицкая³, Людмила Алексеевна Франк⁴, Александр Георгиевич Аншиц⁵**

^{1,2,5}Институт химии и химической технологии Федерального исследовательского центра
«Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН),
г. Красноярск, Россия

^{3,4}Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, Россия

¹vereschagina.ta@icct.krasn.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4538-8902>

²kutikhina@icct.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8730-129X>

³vasilisa.krasitskaya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7018-2581>

⁴lfrank@yandex.r, <https://orcid.org/0000-0003-4462-1944>

⁵anshits@icct.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5259-0319>

Аннотация

Приведены результаты по получению и тестированию свойств микросферических функциональных материалов на основе узких фракций ферросфер и ценосфер летучих зол от сжигания угля, включая магнитные аффинные сорбенты с функционализированной, химически активной в биоспецифическом связывании поверхностью, которые предназначены для концентрирования и выделения рекомбинантных белков из биологических жидкостей, и прекурсоры ⁹⁰Y/¹⁷⁷Lu-алюмосиликатных микросфер в качестве источников β-излучения для брахитерапии.

Ключевые слова:

ферросферы, ценосферы, аффинные сорбенты, микросферические источники β-излучения, брахитерапия

Благодарности:

статья выполнена при поддержке федерального бюджета по теме государственного задания Института химии и химической технологии ФИЦ КНЦ СО РАН № 0287-2021-0013 (раздел 1), гранта Российского научного фонда (проект № 22-23-20093), Красноярского краевого фонда науки (раздел 2). Исследование выполнено с использованием оборудования Красноярского регионального ЦКП ФИЦ КНЦ СО РАН.

Для цитирования:

Микросферические функциональные материалы для биомедицинских приложений / Т. А. Верещагина [и др.] // Труды Кольского научного центра РАН. Серия: Технические науки. 2023. Т. 14, № 3. С. 82–87. doi:10.37614/2949-1215.2023.14.3.014.

Original article

MICROSPHERE FUNCTIONAL MATERIALS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

**Tatiana A. Vereshchagina¹, Ekaterina A. Kutikhina², Vasilisa V. Krasitskaya³, Ludmila A. Frank⁴,
Alexander G. Anshits⁵**

^{1,2,5}Institute of Chemistry and Chemical Technology of the FRS “Krasnoyarsk Science Centre
of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences” (FRC KCS SB RAS), Krasnoyarsk, Russia

^{3,4}Institute of Biophysics of the FRC KCS SB RAS, Krasnoyarsk, Russia

¹vereschagina.ta@icct.krasn.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4538-8902>

²kutikhina@icct.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8730-129X>

³vasilisa.krasitskaya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7018-2581>

⁴lfrank@yandex.r, <https://orcid.org/0000-0003-4462-1944>

⁵anshits@icct.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5259-0319>

Abstract

The paper presents results on preparation and testing the properties of microsphere functional materials derived from coal fly ash ferrospheres and cenospheres for application in biotechnology and medicine including (i) magnetic affine sorbents with the functionalized surface being chemically active in biospecific binding for isolation of recombinant proteins from biological liquids, and (ii) precursors of ⁹⁰Y/¹⁷⁷Lu-aluminosilicate microspheres as sources of β-irradiation for brachytherapy.

Keywords:

ferrospheres, cenospheres, affine sorbents, microsphere sources of β-irradiation, brachytherapy

Acknowledgments:

the article was supported from the federal budget on the topic of state assignment for Institute of chemistry of FRC KCS SB RAS of Sciences" No. 0287-2021-0013 (Part 1), grant from the Russian Science Foundation (Project No. 22-23-20093), Krasnoyarsk Regional Fund of Science (Section 2). The study was performed using the equipment of the Krasnoyarsk Regional centre of Collective use of FRC KCS SB RAS.

For citation:

Microsphere functional materials for biomedical applications / T. A. Vereshchagina [et al.] // Transactions of the Kola Science Centre of RAS. Series: Engineering Sciences. 2023. Vol. 14, No. 3. P. 82–87. doi:10.37614/2949-1215.2023.14.3.014.

Введение

Стеклокристаллические железоалюмосиликатные микросферы из летучих зол от сжигания каменного угля за счет возможности стабилизации их состава [1, 2] находят все более широкое применение в различных областях в качестве основы эффективных функциональных материалов, включая высокоселективные мембраны для диффузионного выделения гелия и водорода [3], катализаторы для процессов окислительной конденсации метана [4], композитные сорбенты для извлечения радионуклидов из жидких радиоактивных отходов [5, 6] и др.

В контексте их использования в биотехнологии и диагностических методиках, среди разнообразных морфологических типов микросфер, отличающихся химическим и минерально-фазовым составом, заслуживают внимание магнитные микросферы — ферросферы монолитного строения, текстура которых образована крупными кристаллитами феррошпинели, капсулированных в силикатном стекле [2], и полые микросферы (ценосферы) с тонкой стенкой на основе алюмосиликатного стекла с включениями нано- или микроразмерных феррошпинелей, обеспечивающих суперпарамагнитные или ферромагнитные свойства [1, 7]. Микросферический дизайн в сочетании с магнитными свойствами и наличием силикатной стеклофазы, являющейся источником поверхностных реакционноспособных $\equiv\text{Si-OH}$ групп, позволяет использовать микросферы для создания магнитоуправляемых аффинных сорбентов с функционализированной поверхностью, активной в биоспецифическом связывании.

Немагнитные ценосферы с высоким содержанием стеклофазы (свыше 95 мас. %) перспективны для создания микросфер с капсулированными в стекле радионуклидами редкоземельных металлов (Y-90, Lu-177 и др.), которые применяются для внутрисосудистой радиационной терапии злокачественных опухолей печени, известной как брахитерапия [8].

Целью данной работы являлось обобщение полученных экспериментальных данных по получению и тестированию свойств микросферических функциональных материалов на основе узких фракций ферросфер и ценосфер летучих зол от сжигания угля на примере двух областей применения в биотехнологии и медицине.

Результаты исследований

1. Магнитоуправляемые аффинные сорбенты с иммобилизованными ионами Ni^{2+} [9]. Объектами специфического связывания магнитным сорбентом с иммобилизованными ионами Ni^{2+} являются рекомбинантные белки, имеющие в своем составе фрагмент из 6 повторяющихся гистидиновых остатков (6His) по NH_2 -концу [10]. Иммобилизация Ni^{2+} на твердофазной подложке может осуществляться за счет образования координационных связей с полидентатным хелатирующим агентом [10] или ионной/ковалентной связи [11]. Свободные валентности хелатированного иона металла связываются с электронодонорными атомами азота гистидинового остатка. Способ ковалентной иммобилизации Ni^{2+} наиболее предпочтителен, поскольку позволяет избежать недостатков хелатирующих сорбентов, в первую очередь дезактивации из-за вымывания катионов металла после каждого цикла использования. Сочетание магнитных свойств твердофазного носителя с прочной фиксацией металла на его поверхности является оптимальным для синтетических аффинных сорбентов данного типа, причем дизайн большинства из них может быть охарактеризован как «ядро-оболочка», поскольку базируется на магнитном ядре, покрытом силикатной оболочкой [12]. Применение уже готовых магнитных микрошариков подобного строения с высоким содержанием

силикатной составляющей существенно упрощает процедуру получения конечного продукта за счет сокращения продолжительности синтеза и способствует снижению его стоимости.

В работе использовали две узкие фракции ферросфер (Fs) с содержанием железа 59,8 мас. % (образец Fs-59) и 76,2 мас. % (образец Fs-76) в расчете на Fe_2O_3 (рис. 1а). В качестве макрокомпонентов в составе ферросфер содержатся также кремний (26,5 и 9,5 мас. % SiO_2) и алюминий (9,4 и 4,6 мас. % Al_2O_3) для образцов Fs-59 и Fs-76 соответственно. Фазовый состав и удельная намагниченность насыщения исходных ферросфер представлены в таблице, данные которой свидетельствуют о высоком содержании ферромагнитной фазы (до 67 мас. %) и алюмосиликатной стеклофазы (до 41 мас. %).

Фазовый состав (мас. %) и удельная намагниченность насыщения (J_s) исходных ферросфер

Образец	Кристаллические фазы				Стеклофаза	J_s , А·м ² /кг
	Феррошпинель	Гематит	Кварц	Муллит		
Fs-59	48,8	2,9	3,1	3,5	41,2	35,8
Fs-76	67,0	3,8	1,3	—	27,2	57,0

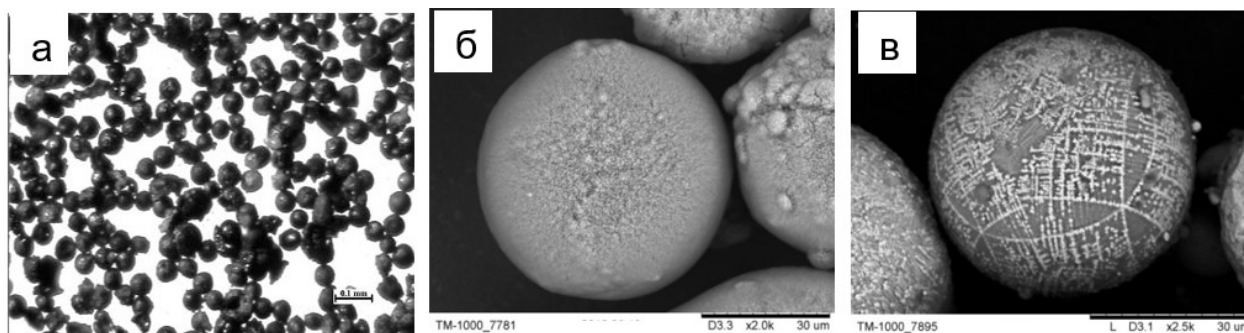


Рис. 1. Узкая фракция ферросфер Fs-59 (а) (оптический микроскоп Axio Imager D1M, Carl Zeiss), ферросферы с микропористым цеолитным (б) и мезопористым силикатным покрытием (в) (сканирующий электронный микроскоп ТМ-1000, Hitachi)

Для формирования на поверхности глобул ферросфер силикатного покрытия с развитой пористостью ферросферы подвергали дополнительной химической модификации путем превращения стеклофазы в микропористую цеолитную фазу (Na-Z) структурного типа гисмондин (GIS) или синтеза мезопористого кремнеземного (SiO_2) покрытия типа MCM-41 на поверхности стеклофазы. В результате получены микрошарики типа «ядро-оболочка» (рис. 1б, в) с реакционноспособной поверхностью в отношении катионов Ni^{2+} , связывание которых осуществлялось в случае цеолитного компонента за счет ионного обмена $\text{Na-Z} + 0,5\text{Ni}^{2+} \leftrightarrow 0,5\text{Ni} - \text{Z} + \text{Na}^+$ (образец Ni-Z/Fs-59) или взаимодействия с нуклеофильными OH-группами мезопористого покрытия в результате пропитки раствором соли никеля (образец Ni- SiO_2 /Fs-76). Нанесение Ni^{2+} составило 0,1 и 0,3 ммоль/г соответственно. На рис. 2 приведены СЭМ снимки глобул микрошариков с иммобилизованными катионами никеля, полученных двумя способами.

Магнитные сорбенты тестировали на примере выделения рекомбинантного белка размером 27 кДа, имеющего в своем составе фрагмент из 6 повторяющихся гистидиновых остатков по NH_2 -концу, — зеленого флуоресцентного белка медузы *Clytia gregaria* (6His-CLGFP). Показано, что магнитные сорбенты проявляют высокое сродство к 6His-CLGFP с достижением сорбционной емкости 1,5–5,7 мг/см³ в зависимости от способа получения и исходной концентрации белка. Результаты многоциклового сорбционного процесса в отношении зеленого флуоресцентного белка свидетельствует о стабильности сорбционных свойств в течение 7 циклов адсорбции-десорбции, что указывает на прочность силикатного покрытия.

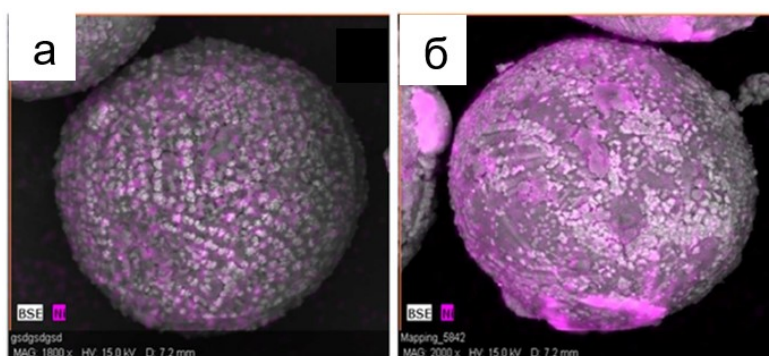


Рис. 2. Распределение катионов Ni^{2+} по поверхности глобул модифицированных ферросфер для образцов $\text{Ni-Z}/\text{Fs-59}$ (а) и $\text{Ni-SiO}_2/\text{Fs-76}$ (б) (сканирующий электронный микроскоп TM-3000, Hitachi)

2. Прекурсоры микросферических β -излучателей на основе ценосфер для брахитерапии [13].

Стеклянные микросферы с радиоактивным иттрием-90/лютецием-177 (Theraspheres, MDS Nordion, Канада) широко используют в мире для лечения рака печени методом радиоэмболизации, основанным на введении микросфер в сосуды, питающие опухоль [8]. Высокая стоимость радиотерапии на основе зарубежных микроисточников делает актуальной разработку более дешевых аналогов, не уступающим прототипам по своим функциональным свойствам. Так, в качестве прекурсора микросферических β -излучателей могут рассматриваться ценосферы с содержанием стеклофазы не ниже 90 мас. %, в которую внедрены стабильные изотопы Y-89 или Lu-176 .

Методология капсулирования $\text{Y-89}/\text{Lu-176}$ в алюмосиликатной матрице ценосфер включает (1) формирование сорбционно-активного покрытия на поверхности глобул ценосфер путем превращения алюмосиликатной стеклофазы (далее $(\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3)_{\text{стекло}}$) в цеолитные структуры (Na-Z) с последующим (2) концентрированием $\text{Lu}^{3+}/\text{Y}^{3+}$ в порах цеолитного компонента за счет ионного обмена $3\text{Na-Z} + \text{Lu}^{3+}/\text{Y}^{3+} \leftrightarrow \text{Lu}^{3+}/\text{Y}^{3+} - \text{Z} + 3\text{Na}^+$ и (3) переводом сорбированных форм $\text{Lu}^{3+}/\text{Y}^{3+}$ в малорастворимые формы в процессе фазового превращения при термическом воздействии. На рис. 3 приведена схема реализации предложенной методологии на примере капсулирования в алюмосиликатной матрице ценосфер катионов лютеция.

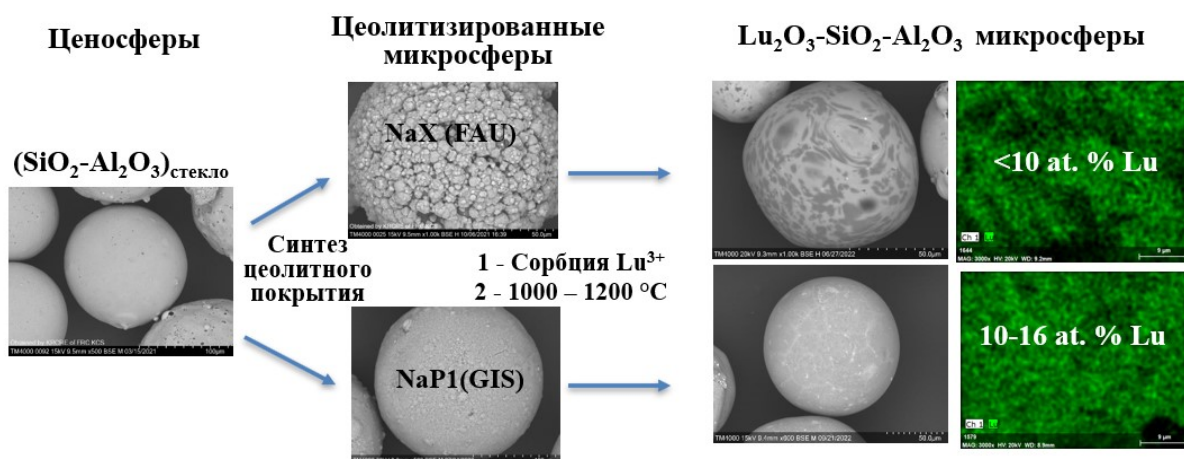


Рис. 3. Схема получения прекурсоров микросферических ^{177}Lu -алюмосиликатных систем с использованием узкой фракции ценосфер

Получены Lu -алюмосиликатные стеклокомпозитные микросферы с локальным содержанием до 16 ат. % Lu с использованием узкой фракции ценосфер в качестве темплата и алюмосиликатной стекломатрицы. В зависимости от условий термической обработки Lu в конечном продукте может

находиться в одной из двух форм — кристаллической фазы $\text{Lu}_2\text{Si}_2\text{O}_7$ (монокл., пр. гр. $C2/m$, $Z = 2$) или аморфном состоянии. Микросферы как с кристаллической, так и аморфной формами лютеция характеризуются низкой скоростью выщелачивания Lu (не выше $3 \cdot 10^{-7}$ г/см²·сут) в физиологическом растворе (0,9 % NaCl), имитирующем состав крови.

Выводы

Приведенные в статье результаты по получению магнитных аффинных сорбентов и прекурсоров микросферических β -излучателей свидетельствуют о перспективности применения узких фракций микросфер летучих энергетических зол для получения функциональных материалов с требуемыми свойствами для применения в биомедицине. Потенциал микросфер не ограничивается представленными материалами и может быть направлен на расширение спектра биоспецифичных магнитных носителей с целью создания высокочувствительных сенсоров для молекулярной диагностики социально значимых заболеваний.

Список источников

1. Composition and morphology of fly ash cenospheres produced from the combustion of Kuznetsk coal / E. V. Fomenko [et al.] // *Energy Fuels*. 2013. Vol. 27. P. 5440–5448.
2. Anshits N. N., Fomenko E. V., Anshits A. G. The composition–structure relationship and routes of formation of blocklike ferrospheres by pulverized combustion of two coal types // *ACS Omega*. 2021. Vol. 6. P. 26004–26015.
3. Gas permeation properties of hollow glass-crystalline microspheres / E. V. Fomenko [et al.] // *RSC Advances*. 2014. Vol. 20. P. 9997–10000.
4. Nature of the active sites of ferrospheres in the oxidative condensation of methane / A. G. Anshits [et al.] // *Kinetics and Catalysis*. 2015. Vol. 56. P. 523–531.
5. Microsphere sorbents based on cenosphere supported zirconium molybdates and zirconium silicates for cesium-137 and strontium-90 removal from radioactive waste solutions / T. A. Vereshchagina [et al.] // *Chem. Sust. Develop.* 2021. Vol. 29. P. 261–268.
6. Hydrothermal synthesis and sorption performance to Cs(I) and Sr(II) of zirconia-analcime composites derived from coal fly ash cenospheres / T. A. Vereshchagina [et al.] // *Chimica Techno Acta*. 2022. Vol. 9. P. 20229418.
7. The nature and properties of iron-containing nanoparticles dispersed in an aluminosilicate matrix of cenospheres / T. A. Vereshchagina [et al.] // *Glass Phys. Chem.* 2004. Vol. 30. P. 247–256.
8. Vente M. A. D., Zonnenberg B. A., Nijssen J. F. W. Microspheres for radioembolization of liver malignancies // *Expert Rev. Med. Devices*. 2010. Vol. 7. P. 581–583.
9. Ni^{2+} -zeolite/ferrosphere and Ni^{2+} -silica/ferrosphere beads for magnetic affinity separation of histidine-tagged proteins / T. A. Vereshchagina [et al.] // *Dalton Trans.* 2016. Vol. 45. P. 1582–1592.
10. Oligohis-tags: mechanisms of binding to Ni^{2+} -NTA surfaces / S. Knecht [et al.] // *J. Mol. Recognit.* 2009. Vol. 22. P. 270.
11. Novel purification system for 6xHis-tagged proteins by magnetic affinity separation / A. Frenzel [et al.] // *J. Chromatogr. B: Biomed. Appl.* 2003. Vol. 793. P. 325.
12. Yolk-shell nanostructured $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{NiSiO}_3$ for selective affinity and magnetic separation of his-tagged proteins / Y. Wang [et al.] // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2014. Vol. 6. P. 19092.
13. Cenosphere-based zeolite precursors of lutetium encapsulated aluminosilicate microspheres for application in brachytherapy / T. Vereshchagina [et al.] // *Materials*. 2022. Vol. 15. P. 7025.

References

1. Fomenko E. V., Anshits N. N., Solovyov L. A., Mikhaylova O. A., Anshits A. G. Composition and morphology of fly ash cenospheres produced from the combustion of Kuznetsk coal. *Energy Fuels*, 2013, Vol. 27, pp. 5440–5448.
2. Anshits N. N., Fomenko E. V., Anshits A. G. The composition–structure relationship and routes of formation of blocklike ferrospheres by pulverized combustion of two coal types. *ACS Omega*, 2021, Vol. 6, pp. 26004–26015.
3. Fomenko E. V., Rogovenko E. S., Solovyov L. A., Anshits A. G. Gas permeation properties of hollow glass-crystalline microspheres. *RSC Advances*, 2014, Vol. 20, pp. 9997–10000.
4. Anshits A. G., Anshits N. N., Rabchevskii E. V., Vereshchagin S. N., Bayukov O. A., Pletnev O. N., Kondratenko E. V. Nature of the active sites of ferrospheres in the oxidative condensation of methane. *Kinetics and Catalysis*, 2015, Vol. 56, pp. 523–531.

5. Vereshchagina T. A., Kutikhina E. A., Fomenko E. V., Anshits A. G. Microsphere sorbents based on cenosphere supported zirconium molybdates and zirconium silicates for cesium-137 and strontium-90 removal from radioactive waste solutions. *Chemistry for Sustainable Development*, 2021, Vol. 29, pp. 261–268.
6. Vereshchagina T. A., Kutikhina E. A., Buyko O. V., Anshits A. G. Hydrothermal synthesis and sorption performance to Cs(I) and Sr(II) of zirconia-analcime composites derived from coal fly ash cenospheres. *Chimica Techno Acta*, 2022, Vol. 9, pp. 20229418.
7. Vereshchagina T. A., Anshits N. N., Maksimov N. G., Vereshchagin S. N., Bayukov O. A., Anshits A. G. The nature and properties of iron-containing nanoparticles dispersed in an aluminosilicate matrix of cenospheres. *Glass Physics and Chemistry*, 2004, Vol. 30, pp. 247–256.
8. Vente M. A. D., Zonnenberg B. A., Nijssen J. F. W. Microspheres for radioembolization of liver malignancies. *Expert Review of Medical Devices*, 2010, Vol. 7, pp. 581–583.
9. Vereshchagina T. A., Fedorchak M. A., Sharonova O. M., Fomenko E. V., Shishkina N. N., Zhizhaev A. M., Kudryavtsev A. N., Frank L. A., Anshits A. G. Ni^{2+} -zeolite/ferrosphere and Ni^{2+} -silica/ferrosphere beads for magnetic affinity separation of histidine-tagged proteins. *Dalton Transactions*, 2016, Vol. 45, pp. 1582–1592.
10. Knecht S., Ricklin D., Eberle A. N., Ernst B. Oligohis-tags: mechanisms of binding to Ni^{2+} -NTA surfaces. *Journal of Molecular Recognition*, 2009, Vol. 22, pp. 270–279.
11. Frenzel A., Bergemann C., Kohl G., Reinard T. Novel purification system for 6xHis-tagged proteins by magnetic affinity separation. *Journal of Chromatography. B: Biomedical applications* 2003, Vol. 793, pp. 325.
12. Wang Y., Wang G., Xiao Y., Yang Y., Tang R. Yolk-shell nanostructured $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{NiSiO}_3$ for selective affinity and magnetic separation of his-tagged proteins. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, Vol. 6, p. 19092.
13. Vereshchagina T., Kutikhina E., Vereshchagin S., Buyko O., Anshits A. Cenosphere-based zeolite precursors of lutetium encapsulated aluminosilicate microspheres for application in brachytherapy. *Materials*, 2022, Vol. 15, pp. 7025.

Информация об авторах

Т. А. Верещагина — доктор химических наук, ведущий научный сотрудник;

Е. А. Кутихина — кандидат химических наук, научный сотрудник;

В. В. Красицкая — кандидат биологических наук, научный сотрудник;

Л. А. Франк — доктор химических наук, главный научный сотрудник;

А. Г. Аншиц — доктор химических наук, профессор, руководитель научного направления.

Information about the authors

T. A. Vereshchagina — Dr. Sc. (Chemistry), Leading Researcher;

E. A. Kutikhina — PhD (Chemistry), Researcher;

V. V. Krasitskaya — PhD (Biology), Researcher;

L. A. Frank — Dr. Sc. (Biology), Senior Researcher;

A. G. Anshits — Dr. Sc. (Chemistry), Professor, Head of scientific direction.

Статья поступила в редакцию 30.01.2023; одобрена после рецензирования 31.01.2023; принята к публикации 01.02.2023.

The article was submitted 30.01.2023; approved after reviewing 31.01.2023; accepted for publication 01.02.2023.