

УДК 546.271-386

СИНТЕЗ КОНЬЮГАТА *клозо*-ДОДЕКАБОРАТНОГО АНИОНА С ЭТИЛГЛИЦИНАТОМ И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ НА МОДЕЛИ МЕЛАНОМЫ В16F10

© 2024 г. М. Н. Рябчикова^a, А. В. Нелюбин^b, А. В. Смирнова^c, Ю. А. Финогенова^c, В. А. Скрибицкий^{c, d}, К. Е. Шпакова^{c, d}, А. С. Кубасов^b, А. П. Жданов^{b, *}, А. А. Липенгольц^{c, d}, Е. Ю. Григорьева^c, К. Ю. Жижин^b, Н. Т. Кузнецов^b

^aНациональный исследовательский университет “Высшая школа экономики”, Мясницкая ул., 20, Москва, 101000 Россия

^bИнститут общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Ленинский пр-т, 31, Москва, 119991 Россия

^cНациональный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Каширское ш., 23, Москва, 115522 Россия

^dНациональный исследовательский ядерный университет “МИФИ”, Каширское ш., 31, Москва, 115409 Россия

*e-mail: zhdanov@igic.ras.ru

Поступила в редакцию 21.11.2023 г.

После доработки 26.12.2023 г.

Принята к публикации 27.12.2023 г.

Предложен метод синтеза амидин-*клозо*-додекабората на основе этилового эфира глицина в виде сольвата натриевой соли высокой степени чистоты и постоянного состава. Структура полученного сольвата подтверждена методом РСА монокристалла. Для синтезированного конъюгата $\text{Na}[\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{NH}=\text{C}(\text{NHCH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5)\text{CH}_3]$ определена общая и острая токсичность, а также биораспределение в организме лабораторных мышей с перевивной меланомой В16F10.

Ключевые слова: *клозо*-додекаборатный анион, борилированные амидины, бор-нейтронозахватная терапия

DOI: 10.31857/S0044457X24060015, **EDN:** XTSSLG

ВВЕДЕНИЕ

Кластерные анионы бора находят широкое применение при создании каталитических систем [1–4], магнитных материалов [5–7], материалов дляoltaических элементов [8–10], лекарственных препаратов [11–14]. Основной областью применения кластерных анионов бора остается получение новых препаратов для бор-нейтронозахватной терапии (БНЗТ) онкологических заболеваний [15–18]. Новый импульс данное направление получило в 2020 г., когда БНЗТ впервые за свою долгую историю перешла из статуса экспериментальной терапии в статус штатного метода лечения злокачественных новообразований. Страховая медицина Японии 1 июня 2020 г. стала покрывать расходы на проведение БНЗТ, тем самым поставив ее в один ряд с другими методами лечения. В настоящее время во многих странах мира (Финляндия, Япония, Китай, Корея, Италия, Аргентина и др.) идет интенсивное строительство центров для проведения БНЗТ [19].

Появление источников нейтронов на основе ускорителей также решает проблему размещения установок для лечения в медицинских центрах без

реакторных установок [20, 21]. В связи с этим проблемы разработки эффективных борсодержащих препаратов становятся все более значимыми. Важнейшими требованиями к препаратам для БНЗТ являются достижение терапевтической концентрации и обеспечение градиента концентраций между опухолевыми и здоровыми клетками, поэтому соединения должны обладать малой токсичностью и включать транспортную функциональную группу. Одним из способов повышения селективности накопления является получение производных на основе биологически активных соединений – нуклеотидов, сахаров, аминокислот, олигопептидов и белковых молекул [22–25]. При этом для модификации *клозо*-додекаборатного аниона чаще всего применяют реакции раскрытия циклических оксониевых заместителей [26, 27] и нуклеофильного присоединения к кратным связям нитрильных производных [28–32].

Цель настоящей работы – исследование процесса получения борилированного амидина на основе этилового эфира глицина, оптимизация методов его очистки в виде сольвата с изопропанолом и изучение

общей и острой токсичности и биораспределения в организме лабораторных животных.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ЯМР-спектры ^1H , $^{11}\text{B}\{\text{H}\}$, $^{13}\text{C}\{\text{H}\}$ растворов исследуемых веществ в CD_3CN записывали на импульсном фурье-спектрометре Bruker Avance-II 300 (Германия) на частотах 300.3, 96.32 и 75.49 МГц соответственно с внутренней стабилизацией по дейтерию. В качестве внешнего стандарта использовали тетраметилсилан или эфират трехфтористого бора.

ОФ-ВЭЖХ проводили на изократической ВЭЖХ-системе Knauer: детектор PDA Smartline 2800, насос Smartline 1000, колонка Диасфер-110-С18 250×4.6 мм. Ввод образца осуществляли вручную, петля имела объем 20 мкл. Элюент – 40/59.85/0.15 об. % $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{CF}_3\text{COOH}$.

Рентгеноструктурный анализ выполнен в Центре коллективного пользования ИОНХ РАН на автоматическом дифрактометре Bruker APEX2 CCD (λMoK_α , графитовый монохроматор, ω - ϕ -сканирование). Структуры расшифрованы прямым методом с последующим расчетом разностных синтезов Фурье. Все неводородные атомы катионов и атомы бора уточнены в анизотропном приближении. Неводородные атомы растворителя и экзополіэдрического заместителя аниона уточнены в изотропном приближении. Все атомы водорода уточнены по модели “наездника” с тепловыми параметрами $U_{\text{изо}} = 1.2U_{\text{экв}} (U_{\text{изо}})$ соответствующего неводородного атома ($1.5U_{\text{изо}}$ для CH_3 -групп). При сборе и обработке массива отражений использовали программы APEX2 [33], SAINT [34] и SADABS [35]. Структура расшифрована и уточнена с помощью комплекса программ OLEX2 [36].

Подготовка проб для элементного анализа. Растворение образцов проводили методом микроволнового разложения в системе Ethos Easy (Milestone, Италия). В автоклав из фторопласта помещали образец биологической ткани массой от 0.2 до 1 г, добавляли 5 мл концентрированной азотной кислоты (HNO_3) и 1 мл пероксида водорода (H_2O_2). Контроль температуры каждого автоклава осуществлялся автоматически встроенным термодатчиком в системе микроволнового разложения. Разложение проводили 30 мин с постепенным нагревом до 190°C , после чего при температуре 190°C образец инкубировали в течение 10 мин. После остывания до 50°C автоклавы вынимали из системы микроволнового разложения и открывали в вытяжном шкафу. Содержимое автоклава переливали в пластиковые пробирки типа Falcon объемом 50 мл, не содержащие в своем со-

ставе бор. К каждому образцу добавляли 50 мкл поверхностно-активного агента Triton X-100 и доводили объем до 10 мл деионизованной водой.

Элементный анализ. Количественное определение бора в образцах проводили методом ICP-OES на оптико-эмиссионном спектрометре высокого разрешения с индуктивно связанной плазмой PlasmaQuant 9100 Series (Analytik Jena, Германия) с использованием стандартного мультикалибровочного раствора ICP multi-element standard solution IV (Supelco Certipur, Германия). Для измерения концентрации бора в биологических образцах использовали две длины волны электромагнитного излучения: 249.773 и 249.678 нм. Каждый образец измеряли три раза на каждой длине волны. Полученные значения интенсивности сигнала сопоставляли с калибровочной прямой (коэффициент корреляции $R^2 > 0.99$, диапазон измерений 0.05–4 (мкг В)/мл) и получали количественное значение концентрации бора в единице объема образца.

Исследование острой токсичности проводили на аутбредных мышах (самцах и самках). В начале эксперимента возраст животных составлял 7–8 недель. Для исследования каждой дозы субстанции лекарственного средства использовали группы по пять животных разного пола. Животные были распределены по группам рандомизированно. В качестве критерия оценки токсичности принимали массу тела таким образом, чтобы индивидуальное значение массы не отклонялось от среднего более чем на 10%. Кроме того, формировали аналогичные по численности группы контрольных животных каждого пола, которым по тому же пути вводили эквивалентные объемы растворителя (воды для инъекций). Наблюдение за животными в ходе исследования вели ежедневно утром и во второй половине дня в течение 14 сут. В день введения препаратов за животными наблюдали каждый час.

Исследование фармакокинетических свойств проводили на самках мышей линии C57Bl/6 весом 20–22 г (разведение ФГБУ “НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина” Минздрава России). В качестве опухолевой модели использовали штамм опухолевых клеток линии меланомы B16F10 [37]. Биоматериал получен из криохранилища опухолевых культур ФГБУ “НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина” Минздрава России. Опухолевую взвесь готовили *ex tempore* из опухолевых узлов второго пассажа. Опухолевый узел объемом 0.6–1 cm^3 удаляли из тела животного с помощью медицинских ножниц. Затем опухолевый узел гомогенизировали и добавляли раствор Хэнкса в соотношении 1 : 6 (опухоль : рас-

твор) по массе. Инокулят перевивали подкожно в правую заднюю лапу в объеме 0.2 мл. Исследование проводили, когда объем опухолевого узла достигал 0.3–0.4 см³. Для исследования фармакокинетических свойств изучаемого соединения животные были разделены на четыре группы по три мыши. Каждая группа соответствовала временным точкам в 15, 30, 60 и 120 мин соответственно. Животным вводили внутрибрюшинно 0.3 мл раствора исследуемого соединения (для его приготовления использовали воду для инъекций) с концентрацией 10 мг/мл, что соответствовало 3.7 (мг В)/мл. Через соответствующие интервалы времени животных подвергали эвтаназии и извлекали следующие органы и ткани: кровь, опухолевый узел, мышечную ткань, кожу (очищенную от шерсти) и печень. После извлечения все органы и ткани помещали в пластиковые контейнеры, не содержащие бор, и взвешивали. Образцы в контейнерах помещали на хранение в морозильную камеру с температурой –20°C.

Ацетонитрил, дихлорметан, изопропанол, метанол, NaCl, Na₂SO₄, HCl марок “х. ч.” и “о. с. ч.” были приобретены в ООО “Альдоса”, гидрохлорид этилового эфира глицина, CF₃COOH, тетрафенилборат натрия (99%) – в компании ABCR. Реагенты и растворители использовали без дополнительной очистки.

Синтез ((C₄H₉)₄N[B₁₂H₁₁NH=C(NHCH₂COOC₂H₅)CH₃]) (Bu₄N (1)) проводили по методике [29].

Синтез Na⁽ⁱ⁾(C₃H₇OH)[B₁₂H₁₁NH=C(NHCH₂COOC₂H₅)CH₃] (Na(1)). Готовили растворы 1.587 г (3.0 ммоль) Bu₄N (1) в метаноле и 1.0 г (2.92 ммоль) Na[BPh₄] в 20 мл воды. Растворы сливали при интенсивном перемешивании, выпавший осадок отфильтровывали, а раствор упаривали на ротаторном испарителе. Полученный продукт трижды перекристаллизовывали из 2-пропанола и сушили в вакууме. Выход Na⁽ⁱ⁾(C₃H₇OH)[B₁₂H₁₁NH=C(NHCH₂COOC₂H₅)CH₃] составил 0.988 г (89%).

¹¹B{H} ЯМР (CD₃CN, δ, м.д.): –6.4 (с, 1В, В–N), –15.2 (с, 10В, В–Н (В(2–11))), –16.4 (В–Н (В12)).
¹H ЯМР (CD₃CN, δ, м.д.): 2.5–0.0 (уш. м, 11Н, В–Н), 8.18 (уш. с, 2Н, NH=C(NH)–CH₃), 6.81 (уш. с, 1Н, NH=C(NH)–CH₃), 4.18 (к, J = 7.1 Гц, 2Н, NH–CH₂COOCH₂CH₃), 4.04 (л, J = 5.8 Гц, 2Н, NH–CH₂COOCH₂CH₃), 3.83 (геп, J = 6.0 Гц, 1Н, CH(CH₃)₂), 2.03 (с, 3Н, NH=C(NH)–CH₃), 1.23 (н, J = 7.1 Гц, 3Н, NH–CH₂COOCH₂CH₃), 1.06 (д, J = 6.1 Гц, 6Н, CH(CH₃)₂).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Главным требованием, предъявляемым к исследуемым соединениям при изучении их биологических свойств *in vivo*, является высокая чистота и однозначность состава. Примеси, оставшиеся на этапе синтеза, могут исказить результаты биологических исследований, а также затрудняют расчет дозировки препарата. Главной сложностью при исследовании токсикологических, фармакокинетических и фармакодинамических характеристик производных *клозо*-боратных анионов является несовместимость подходов к их наработке и изучению их свойств. Для максимизации выхода целевых соединений и упрощения их очистки предпочтительно использовать их соли с крупными органическими катионами, такими как *n*-тетрабутиламмониевый катион. Такие соли хорошо растворимы в большинстве органических растворителей, но нерастворимы в воде, кроме того, все соли с тетрабутиламмониевым катионом являются высокотоксичными соединениями. Для исследования биологических свойств производных *клозо*-додекаборатного аниона предпочтительно использовать их натриевые соли. Таким образом, к процессу синтеза целевых замещенных производных добавляется стадия замены катиона. Применяемые для этого подходы в основном базируются на количественном осаждении тетрабутиламмониевого катиона тетрафенилборатом натрия. Главным недостатком этого метода является остаточное содержание токсичных тетрабутиламмониевого катиона и тетрафенилборатного аниона. Их следовые количества (спектроскопическими методами могут быть определены примеси при содержании >5%) могут оказывать существенное влияние на токсичность получаемых производных. Все натриевые соли производных *клозо*-боратных анионов существуют в виде кристаллогидратов переменного состава и хорошо растворимы в большинстве органических растворителей, что не позволяет очистить их методами перекристаллизации и требует применения хроматографических методов. Решением данной проблемы стало получение сольвата натриевой соли конъюгата *клозо*-додекаборатного аниона с этиловым эфиром глицина, в котором кристаллизационная вода была заменена на изопропиловый спирт.

При добавлении изопропанола к производному Na(1) · (H₂O)_x наблюдается образование кристаллического продукта. Строение продукта было установлено методом ¹H ЯМР-спектроскопии. В спектре полученного производного присутствуют сигналы аминокислотной и амидиновой составляющих конъю-

Таблица 1. Классификация веществ по степени токсичности

Класс	Степень токсичности	ЛД ₅₀ , однократно в/б, мыши (мг/кг)
1	Чрезвычайно токсично	<0.1
2	Высокотоксично	0.1–5
3	Умеренно токсично	5–50
4	Малотоксично	50–500
5	Практически нетоксично	500–1500
6	Относительно безвредно	>1500

югата, а также сигналы изопропилового спирта. Соотношение интегральных интенсивностей данных сигналов свидетельствует об образовании продукта состава $\text{Na}[\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{NH}=\text{C}(\text{NHCH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5)\text{CH}_3] \cdot \text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$. Строение полученного производного было подтверждено методом РСА (рис. 1).

Изопропиловый спирт сольватирует ион натрия, образуя устойчивую жесткую структуру. В окружение каждого атома натрия входит молекула спирта, карбонильный атом кислорода экзополлиэдрического заместителя, одна грань и одно ребро двух соседних кластерных анионов бора. В результате образуется квази-1D-полимерная цепь за счет кулоновского взаимодействия между ионом натрия и борилированным амидином.

Таким образом, был предложен подход для получения целевого производного с уровнем чистоты, пригодным для биологических испытаний. Однако содержащийся в составе 2-пропанол при введении в организм может оказывать токсическое воздействие. Для проведения биологических испытаний очищенный сольват переводили обратно в гидратную форму. Как уже было рассмотрено, натриевые соли борилированных амидинов образуют гидраты переменного состава, что делает невозможным точный расчет дозировок. Для решения указанной проблемы точно отмеренную навеску сольвата растворяли в дистиллированной воде и упаривали на ротаторном испарителе. Эту операцию повторяли до полного исчезновения сигналов изопропилового

спирта по данным ^1H ЯМР-спектроскопии, после чего полученный остаток растворяли в воде для инъекций, получая раствор с точно известной концентрацией. Благодаря этой методике целевое соединение обладает однозначным составом, что подтверждается данными элементного анализа; при расчетной массовой доле бора в структуре комплекса 37.7% экспериментально определенное значение составило 37.1 ± 0.8 мас. %. Чистота полученного раствора подтверждена методом ОФ-ВЭЖХ. Площадь пика целевого соединения составила 98.7% общей площади хроматограммы при отсутствии четко выраженных пиков других соединений. Полученный результат соответствует требованиям, предъявляемым к препаратам для БНЗТ для проведения клинических исследований.

Для изучения фармакокинетических свойств полученного производного требовалось исследовать его токсикологические свойства для установления максимальной переносимой дозы.

Приготовленный раствор препарата вводили животным внутрибрюшинно в возрастающих дозах (табл. 1). Минимальная доза введенного препарата составляла 125 мг/кг, максимальная – 1000 мг/кг. Максимальная введенная доза, при которой не зафиксирован падеж, составила 125 мг/кг. Летальность 100% за весь период наблюдения (14 сут) зафиксирована при дозе 1000 мг/кг. В группе контроля растворителя падеж не наблюдался.

При однократном внутрибрюшинном введении дозы 1000 мг/кг у мышей непосредственно после введения препарата развивалось угнетенное состояние, они демонстрировали признаки абдоминальной боли (выраженное снижение активности, неестественное положение тела, шаткость походки). Падеж животных в группе введения 1000 мг/кг начался через 1.5 ч после инъекции препарата, за первые 6 ч все мыши пали. При введении дозы 500 мг/кг мыши в меньшей степени проявляли аналогичные симптомы, падеж был зарегистрирован с 4 ч после введения до конца первых суток, пало 6 из 10 мышей. При дальнейшем снижении дозы опи-

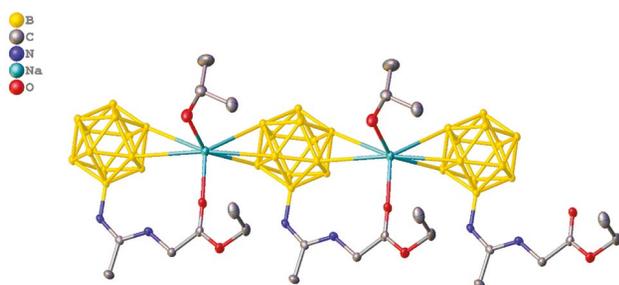


Рис. 1. Структура изопропилового комплекса по данным РСА.

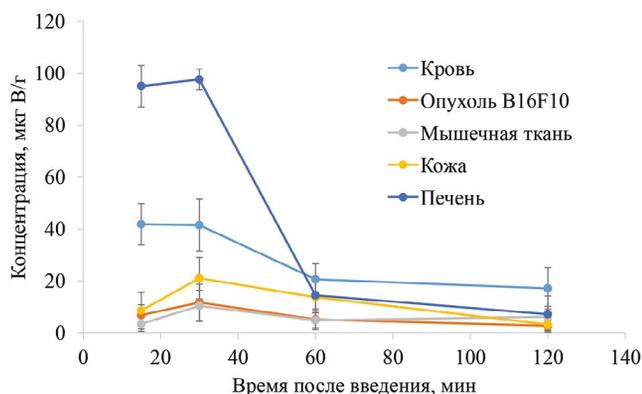


Рис. 2. График изменения концентрации бора в органах и тканях после внутрибрюшинного введения конъюгата.

санные эффекты снижались, в группе с дозой 250 мг/кг пало пять мышей из 10, в группе 125 мг/кг падеж не зафиксирован за весь период наблюдения. При введении растворителя состояние животных не ухудшалось, аппетит и поведение оставались нормальными. Падеж в группе контроля не наблюдался.

В группе дозы 500 мг/кг в течение первых часов у всех животных развивалось выраженное угнетение, в первые сутки у выживших животных были снижены активность и аппетит. В группах 250 и 125 мг/кг изменения в поведении и активности животных отмечались только в течение первых часов после введения препарата, в дальнейшем поведение и состояние животных соответствовали контрольной группе. В группе контроля значимых изменений во внешнем виде и поведении животных не наблюдалось в течение всего периода наблюдения.

Таким образом, LD_{50} , определенная экспериментально, составляет 396 ± 92 мг/кг. Для вычисления использовали пробит-анализ, погрешность устанавливали по формуле Миллера и Тейнтера.

Таким образом, токсичность исследуемого производного позволяет отнести его к классу малотоксичных и установить для дальнейших фармакокинетических исследований переносимую дозу 100 мг/кг.

Исследование биораспределения конъюгата в организме лабораторных мышей проводили с помощью метода ИСР-ОЕС. Для изучения биораспределения определяли содержание бора в органах и тканях мышей после внутрибрюшинного введения конъюгата через 15, 30 мин, 1 и 2 ч. Каждому животному вводили 970 мкг бора в 0.3 мл раствора. Результаты представлены на рис. 2.

В течение 15–30 мин после инъекции в крови сохранялась относительно стабильная концентрация

бора — $4.3 \pm 0.3\%$ от введенной дозы препарата. Наблюдаемое плато содержания бора в крови в течение 30 мин соответствует ожидаемому характеру при внутрибрюшинном введении и отражает постепенное всасывание препарата брюшиной. Далее содержание бора в крови резко падало и через 2 ч после инъекции составляло 1.8% от введенного.

Динамика содержания бора в коже, мышечной ткани и опухолевом узле соответствовала изменению концентрации бора в крови. Во всех указанных органах отмечалось увеличение концентрации бора в интервале 15–30 мин, максимальное содержание бора через 30 мин после инъекции с последующим снижением к 1 ч. В опухолевой ткани наибольшее содержание бора, определенное через 30 мин после инъекции, достигало 0.2% от введенной дозы.

Наиболее интенсивное накопление бора определялось в печени. Через 15 и 30 мин после инъекции содержание бора в печени было в 2.3 раза выше, чем в крови. Максимальное содержание бора достигалось через 30 мин после инъекции и составляло 10% от введенной дозы. Однако потом содержание бора резко падало и уже через 1 ч было в 1.6 раза ниже, чем в крови, а через 2 ч — в 2.3 раза ниже.

Таким образом, динамика биораспределения конъюгата в органах и тканях лабораторных животных отражала постепенное всасывание препарата брюшиной после внутрибрюшинного введения, распределение с кровью по внутренним органам и постепенное выведение из организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе предложен и оптимизирован метод получения конъюгатов *клизо*-додекаборатного аниона с этиловым эфиром глицина с уровнем чистоты, пригодным для биологических испытаний. Изучена острая токсичность полученного производного и максимальная переносимая доза для проведения фармакокинетических исследований.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ФМИ ИОНХ РАН, функционирующего при поддержке государственного задания ИОНХ РАН в области фундаментальных научных исследований.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 21-13-00450), <https://rscf.ru/project/21-13-00450/>

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты были выполнены в соответствии с этическими стандартами экспериментов на животных и одобрены локальным этическим комитетом НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Метод эвтаназии соответствовал статье 6 и Приложению IV Директивы 2010/63/EU.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Qi B., Wu C., Li X. et al. // *ChemCatChem*. 2018. V. 10. № 10. P. 2285.
<https://doi.org/10.1002/cctc.201702011>
2. Li Y.-T., Zhang S.-H., Zheng G.-P. et al. // *Appl. Catal. A*. 2020. V. 595. P. 117511.
<https://doi.org/10.1016/j.apcata.2020.117511>
3. Wang Z., Liu Y., Zhang H. et al. // *J. Colloid Interface Sci.* 2020. V. 566. P. 135.
<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.01.047>
4. Emin Kilic M., Jena P. // *J. Phys. Chem. Lett.* 2023. V. 14. № 39. P. 8697.
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.3c02222>
5. Shakirova O.G., Lavrenova L.G., Bogomyakov A.S. et al. // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2015. V. 60. № 7. P. 786.
<https://doi.org/10.1134/S003602361507013X>
6. Malinina E.A., Kochneva I.K., Polyakova I.N. et al. // *Inorg. Chim. Acta*. 2018. V. 479. P. 249.
<https://doi.org/10.1016/j.ica.2018.04.059>
7. Lavrenova L.G., Shakirova O.G. // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2023. V. 68. № 6. P. 690.
<https://doi.org/10.1134/S0036023623600764>
8. Duchêne L., Remhof A., Hagemann H. et al. // *Energy Stor. Mater.* 2020. V. 25. № August. P. 782.
<https://doi.org/10.1016/j.ensm.2019.08.032>
9. Duchêne L., Kühnel R.S., Rentsch D. et al. // *Chem. Commun.* 2017. V. 53. № 30. P. 4195.
<https://doi.org/10.1039/c7cc00794a>
10. Duchêne L., Lunghammer S., Burankova T. et al. // *Chem. Mater.* 2019. V. 31. № 9. P. 3449.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.9b00610>
11. Avdeeva V.V., Garaev T.M., Malinina E.A. et al. // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2022. V. 67. № 1. P. 28.
<https://doi.org/10.1134/S0036023622010028>
12. Avdeeva V.V., Garaev T.M., Breslav N.V. et al. // *J. Biol. Inorg. Chem.* 2022. V. 27. P. 421.
<https://doi.org/10.1007/s00775-022-01937-4>
13. Sun Y., Zhang J., Zhang Y. et al. // *Chem. Eur. J.* 2018. V. 24. № 41. P. 10364.
<https://doi.org/10.1002/chem.201801602>
14. Las'kova Yu.N., Serdyukov A.A., Sivaev I.B. // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2023. V. 68. № 6. P. 621.
<https://doi.org/10.1134/S0036023623600612>
15. Tsurubuchi T., Shirakawa M., Kurosawa W. et al. // *Cells*. 2020. V. 9. № 5. 1277.
<https://doi.org/10.3390/cells9051277>
16. Kusaka S., Hattori Y., Uehara K. et al. // *Appl. Radiat. Isot.* 2011. V. 69. № 12. P. 1768.
<https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2011.03.042>
17. Seneviratne D.S., Saifi O., Mackeyev Y. et al. // *Cells*. 2023. V. 12. № 10. P. 1398.
<https://doi.org/10.3390/cells12101398>
18. Novopashina D.S., Vorobyeva M.A., Venyaminova A. // *Front. Chem.* 2021. V. 9. P. 1.
<https://doi.org/10.3389/fchem.2021.619052>
19. Matsumura A., Asano T., Hirose K. et al. // *Cancer Biother. Radiopharm.* 2023. V. 38. № 3. P. 201.
<https://doi.org/10.1089/cbr.2022.0056>
20. Dymova M.A., Taskaev S.Y., Richter V.A. et al. // *Cancer Commun.* 2020. V. 40. № 9. P. 406.
<https://doi.org/10.1002/cac2.12089>
21. International atomic energy agency. *Advances in Boron Neutron Capture Therapy*, 2023. <https://www.iaea.org/publications/15339/advances-in-boron-neutron-capture-therapy> (accessed December 12, 2023).
22. Vorobyeva M.A., Dymova M.A., Novopashina D.S. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 14. P. 7326.
<https://doi.org/10.3390/ijms22147326>
23. Kanygin V., Zaboronok A., Taskaeva I. et al. // *J. Fluoresc.* 2021. V. 31. № 1. P. 73.
<https://doi.org/10.1007/s10895-020-02637-5>
24. Evamarie Hey-Hawkins C.V.T. (Eds.) *Boron-Based Compounds: Potential and Emerging Applications in Medicine*. John Wiley & Sons Ltd, 2018. 496 p.
25. Zaulet A., Nuez M., Sillanpää R. et al. // *J. Organomet. Chem.* 2021. V. 950. P. 121997.
<https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2021.121997>
26. Semioshkin A.A., Sivaev I.B., Bregadze V.I. // *Dalton Trans.* 2008. V. 11. № 8. P. 977.
<https://doi.org/10.1039/b715363e>
27. Prikaznov A.V., Shmalapos A. V., Sivaev I.B. et al. // *Polyhedron*. 2011. V. 30. № 9. P. 1494.
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2011.02.055>
28. Laskova J., Ananiev I., Kosenko I. et al. // *Dalton Trans.* 2022. V. 51. № 8. P. 3051.
<https://doi.org/10.1039/D1DT04174F>
29. Nelyubin A.V., Selivanov N.A., Bykov A. Yu. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 24. P. 13391.
<https://doi.org/10.3390/ijms222413391>
30. Nelyubin A.V., Selivanov N.A., Klyukin I.N. et al. // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2021. V. 66. № 9. P. 1390.
<https://doi.org/10.1134/S0036023621090096>
31. Nelyubin A.V., Sokolov M.S., Selivanov N.A. et al. // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2022. V. 67. № 11. P. 1751.
<https://doi.org/10.1134/S003602362260109X>
32. Nelyubin A.V., Selivanov N.A., Bykov A. Yu. et al. // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2022. V. 67. № 11. P. 1776.
<https://doi.org/10.1134/S0036023622601106>

33. APEX2. Version 2.1-0. Bruker AXS Inc., in: Madison, Wisconsin, USA, 2006.
34. Bruker, SAINT, Bruker AXS Inc., Madison, WI, 2018.
35. *Sheldrick G.M.* (2008) SADABS, Version 2008/1. Bruker AXS Inc., Germany.
36. *Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J. et al.* // J. Appl. Crystallogr. 2009. V. 42. № 2. P. 339. <https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>
37. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / По ред. Хабриева Р.У. М.: Медицина, 2005. 20 с.

PREPARATION OF A *closo*-DODECABORATE ANION CONJUGATE WITH ETHYL GLYCINATE AND STUDY OF ITS BIODISTRIBUTION IN A B16F10 MELANOMA MODEL

M. N. Ryabchikova^a, A. V. Nelyubin^b, A. V. Smirnova^c, Yu. A. Finogenova^d, V. A. Skribitsky^{c, d}, K. E. Shpakova^{c, d}, A. S. Kubasov^b, A. P. Zhdanov^{b, *}, A. A. Lipengolts^{c, d}, E. Yu. Grigorieva^c, K. Yu. Zhizhin^b, N. T. Kuznetsov^b

^a*National Research University Higher School of Economics, Moscow, 101000, Russia*

^b*Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991, Russia*

^c*Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 115478, Russia*

^d*National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute), Moscow, 115409, Russia*

A method for the synthesis of amidine-*closo*-dodecaborate based on glycine ethyl ester in the form of sodium salt solvate of high purity and constant composition was proposed in this work. The structure of the obtained solvate was confirmed by X-ray analysis of single crystal. In addition, total and acute toxicity as well as biodistribution in laboratory mice with B16F10 melanoma were determined for the synthesized conjugate $\text{Na}[\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{NH}=\text{C}(\text{NHCH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5)\text{CH}_3]$.

Keywords: *closo*-dodecaborate anion, borylated amidines, BNCT