

В.Ю. Усов¹, М.Л. Белянин², О.Ю. Бородин³, А.И. Безлекин⁴, А.А. Чурин⁵, Н.Л. Шимановский⁶

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВИЗУАЛИЗАЦИОННЫХ СВОЙСТВ КОМПЛЕКСА Mn(II)-D-МИО-ИНОЗИТОЛ-1, 2, 3, 4, 5, 6- ГЕКСАКИСДИГИДРОФОСФОРНАЯ КИСЛОТА КАК ГЕПАТОСПЕЦИФИЧНОГО ПАРАМАГНИТНОГО КОНТРАСТНОГО СОЕДИНЕНИЯ

¹ Национальный медицинский исследовательский центр им. академика Е.Н. Мешалкина, Новосибирск

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск

³ Томский областной онкологический диспансер, Томск

⁴ Ветеринарная клиника «Алдан-Вет», Томск

⁵ НИИ фармакологии и восстановительной медицины им. академика Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ РАН, Томск

⁶ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

Контактное лицо: Владимир Юрьевич Усов, e-mail: ussov1962@yandex.ru , usov_v@meshalkin.ru

РЕФЕРАТ

Актуальность: Разработка новых парамагнитных контрастных препаратов для МР-томографии, с органо- и патоспецифичностью к определенным физиологическим и патофизиологическим процессам является одним из важнейших и в то же время далеко не решенных направлений развития современной лучевой диагностики. Возможным направлением для создания таких контрастов – парамагнетиков является модификация органоспецифичных радиофармпрепараторов, поскольку химические элементы и основной диагностический радионуклид ядерной медицины ^{99m}Tc , и парамагнетик Mn(II) по свойствам комплексообразования во многом сходны и принадлежат к одной и той же – VII – группе Менделеевской таблицы.

Цель: Создание гепатоспецифичного парамагнитного контрастного препарата – парамагнитного аналога ^{99m}Tc -технефита – путем получения парамагнитного комплекса Mn(II) с фитиновой (D-мио-инозитол-1, 2, 3, 4, 5, 6-гексакисдигидрофосфорной) кислотой.

Материал и методы: Было получено гепатотропное магнитно-резонансное контрастное соединение в виде водного раствора, содержащего парамагнитный комплекс Mn(II) с D-мио-инозитол-1, 2, 3, 4, 5, 6-гексакисдигидрофосфорной (фитиновой) кислотой, в концентрации 0,5 М, с добавлением в соотношении 1:4 по объему 0,5 М водного раствора меглюмина (N-метилглюкамина) для поддержания pH в пределах 6,2–7,8, а также для улучшения стабильности раствора. Рабочее название комплекса Mn (II) с фитиновой кислотой Фитоманг®. Проведена оценка токсикологических свойств соединения при введении лабораторным мышам, релаксивность R_1 и визуализирующих свойств у лабораторных крыс Wistar массой тела 350–400 г, с использованием низкопольного (напряженность поля 0,2 Тл) и высокопольного (напряженность поля 1,5 Тл) МР-томографов.

Результаты: Для 0,5 М водного раствора Mn-фитата с добавлением меглюмина, значение LD_{50} при остром введении лабораторным животным (мышам) составляет более 18,7 мл/кг массы тела, что позволяет отнести данное соединение по нормативам ГОСТ 12.1.007-76 к группе 4 – малоопасные вещества. Константа термодинамической устойчивости составила 17,5. Спин-решеточная релаксивность R_1 в водном растворе при напряженности поля 0,2 Тл составила $R_1 = 6,82$ 1/мс. После введения внутривенно здоровым крысам с сохранный функцией печени Mn-фитат распределяется в кровеносном русле, с быстрым поглощением в течение 5 мин тканью печени, с последующим частичным (до 7 ± 3 % от дозы) выведением в желчь спустя 30 мин и более. Суммарный захват препарата печенью 72 ± 7 % от введенной дозы.

Заключение: Комплексное соединение Mn (II) с D-мио-инозитол-1, 2, 3, 4, 5, 6-гексакисдигидрофосфорной (фитиновой) кислотой относится к малоопасным веществам, устойчиво в водных средах и обладает высокой релаксивностью R_1 , селективно накапливается и интенсивно контрастирует паренхиму печени, и поэтому может рассматриваться как основа для создания гепатоспецифичного парамагнитного контрастного препарата для использования при МРТ-диагностике печени в экспериментальных и клинических исследованиях.

Ключевые слова: МРТ, печень, парамагнитное контрастирование, Mn(II)-фитат, фитоманг, фитиновая кислота, D-мио-инозитол-1, 2, 3, 4, 5, 6-гексакисдигидрофосфорная кислота, доклиническое исследование

Для цитирования: Усов В.Ю., Белянин М.Л., Бородин О.Ю., Безлекин А.И., Чурин А.А., Шимановский Н.Л. Доклиническое исследование визуализационных свойств комплекса Mn(II)-D-мио-инозитол-1, 2, 3, 4, 5, 6-гексакисдигидрофосфорная кислота как гепатоспецифичного парамагнитного контрастного соединения // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 6. С. 56–63. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-6-56-63

W.Yu. Usov¹, M.L. Belyanin², O.Y. Borodin³, A.I. Bezlepkin⁴, A.A. Churin⁵, N.L. Shimanovsky⁶

Preclinical Study of the Imaging Properties of the Mn(II)-D-Myo-Inositol-1, 2, 3, 4, 5, 6-Hexakisdihydrophosphoric Acid Complex as a Hepatospecific Paramagnetic Contrast Agent

¹ E.N. Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russia

² National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

³ Tomsk Regional Oncological Dispensary, Tomsk, Russia

⁴ Aldan-Vet Veterinary Clinic LLC, Tomsk, Russia

⁵ E.D. Goldberg Institute of Pharmacology and Restorative Medicine, Tomsk, Russia

⁶ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Contact person: Vladimir Yuryevich Usov, e-mail: ussov1962@yandex.ru , usov_v@meshalkin.ru

ABSTRACT

Purpose: We tried to create a hepatospecific paramagnetic contrast agent – a paramagnetic analogue of ^{99m}Tc-technetium, by obtaining a paramagnetic Mn(II) complex with phytic (D-myo-inositol-1, 2, 3, 4, 5, 6- hexakis dihydrophosphoric) acid.

Material and methods: A hepatotropic magnetic resonance contrast compound was obtained as an aqueous solution containing a paramagnetic Mn(II) complex with D-myo-inositol-1, 2, 3, 4, 5, 6-hexakis dihydrophosphoric (phytic) acid in a concentration of 0.5 M, with the addition of a 0.5M aqueous solution of meglumine (N-methylglucamine) in a ratio of 1:4 by volume to maintain pH in the range of 6.2–7.8, as well as to improve the stability of the solution. The working name of the Mn(II) complex with phytic acid phytomang®. The toxicological properties of the compound were evaluated when administered to laboratory mice, R₁ relaxation and imaging properties in Wistar laboratory rats weighing 350-400 g, using low-field (field strength 0.2 T) and high-field (field strength 1.5 T) MR tomographs.

Results: For 0.5 M of an aqueous solution of Mn-phytate, with the addition of meglumine, LD₅₀, when administered acutely to laboratory animals – mice, is more than 18.7 ml / kg of body weight, which allows this compound to be classified according to GOST 12.1.007-76 standards to group 4 – low-hazard substances. The thermodynamic stability constant was 17.5. Spin-lattice relaxivity R₁ in aqueous solution at a field strength of 0.2T: R₁ = 6.82 1/ms. After intravenous administration to healthy rats with preserved liver function, Mn-phytate is distributed in the bloodstream, with rapid absorption within 5 minutes by liver tissue, followed by partial (up to 7 ± 3 % of the dose) excretion into bile after 30 minutes or more. The total uptake of the drug by the liver is 72 ± 7 % of the administered dose.

Conclusion: The complex compound Mn (II) with D-myo-inositol-1, 2, 3, 4, 5, 6- hexakis dihydrophosphoric (phytic) acid belongs to low-toxic substances, is stable in aqueous media and has a high relaxability R₁, selectively accumulates and intensively contrasts the liver parenchyma, and can be considered as the basis for creating a hepatospecific paramagnetic contrast preparation for use in MRI diagnostics liver in experimental and clinical studies.

Keywords: MRI, liver, paramagnetic contrast, Mn(II)-phytate, Phytomang, phytic acid, D-myo-inositol-1, 2, 3, 4, 5, 6-hexakis dihydrophosphoric acid, preclinical study

For citation: Usov WYu, Belyanin ML, Borodin OY, Bezlepkin AI, Churin AA, Shimanovsky NL. Preclinical Study of the Imaging Properties of the Mn(II)-D-Myo-Inositol-1, 2, 3, 4, 5, 6-Hexakisdihydrophosphoric Acid Complex as a Hepatospecific Paramagnetic Contrast Agent. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(6):56–63. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-6-56-63

Введение

Разработка новых парамагнитных контрастных препаратов для МР-томографии, с органо- и патоспецифичностью к определенным физиологическим и патофизиологическим пролцессам является одним из важнейших и в то же время далеко не решенных направлений развития современной лучевой диагностики [1]. Возможным направлением для создания таких контрастов- парамагнетиков является использование опыта использования органоспецифичных радиофарм-препараторов, тем более что как химические элементы – и основной диагностический радионуклид ядерной медицины ^{99m}Tc, и парамагнетик (близкий по свойствам к гадолинию) Mn(II), химически во многом сходны и принадлежат к одной и той же – VII – группе Менделеевской таблицы.

Было предложено гепатотропное МРТ-контрастное вещество, состоящее из наночастиц биоразлагаемого полимера, сопряженного с гадолинием [2]. Наночастицы PLA-PEG-NH-DTPA обрабатывают водным раствором хлорида гадолиния Gd³⁺, в результате чего ионы гадолиния связываются фрагментами DTPA в составе наночастиц. Свободный гадолиний Gd³⁺ удаляют из реакционной массы мембранным диализом. Недостатком,

причем трудно устранимым, является возможность наличия в составе свободного Gd³⁺, а также его высвобождение после введения композиции в организма за счет деградации наночастиц в печени и других анатомических образованиях [3, 4].

Надежную репутацию завоевал парамагнитный препарат для диагностики гепатобилиарной системы печени Примовист® (гадоксатдинатрия, Gd-EOB-DTPA, Bayer AO), обладающий высокой тропностью к гепатоцитам [1]. После внутривенного введения Примовист® первоначально распределяется в кровеносном русле, а затем быстро в течение минут – десятков минут поглощается гепатоцитами [3]. Недостатком Gd-EOB-DTPA является высокая стоимость его производства, потенциальная возможность токсических осложнений за счет выделения ксенобиотика – свободного Gd из комплекса Gd-EOB-ДТПА, а также относительно невысокая концентрация препарата в растворе – 0,25 М/л, что в целом может отразиться на снижении безопасности и точности диагностики с помощью указанного контрастного средства. Высокая экономическая стоимость препарата не позволяет к тому же полностью покрыть повседневную потребность в МР-томографических исследованиях с парамагнитным контрастным усилением.

Поэтому безусловно актуальной остается задача разработки и расширения арсенала контрастных средств для МРТ печени, в стремлении достичь как можно большей чувствительности и специфичности, позволяющих получить больший объем диагностической информации, экономически более дешевых и лишенных риска высвобождения токсичного Gd в свободном виде в биологические ткани и жидкости организма.

Поскольку ^{99m}Tc и Mn, принадлежащие к одной и той же – VII-й – группе Менделеевской таблицы, обладают весьма сходными химическими свойствами и в частности, свойствами комплексообразования, то оказывается возможной, как отмечено выше, замена в используемых для получения радиофармпрепараторов ^{99m}Tc на Mn в достаточном количестве, с получением диагностических или терапевтических форм комплексов Mn(II). При этом стойкость комплексных соединений Mn оказывается даже выше, чем у комплексов с ^{99m}Tc , поскольку размер атома Mn(II) меньше, чем для ^{99m}Tc [4].

Одним из радиофармпрепараторов – наиболее прочных комплексов ^{99m}Tc , является фитиновая (D-мио-инозитол-1, 2, 3, 4, 5, 6-гексакисдигидрофосфорная) кислота, для ОФЭКТ/КТ печени (структурная формула ее представлена на рис. 1А), представляющая собой сложный эфир циклического шестиатомного полиспирта мио-инозита и шести остатков ортофосфорной кислоты, по два из которых могут соединяться с ^{99m}Tc (III), или Mn(II) (рис. 1Б). Известно, что в нейтральной среде фосфатные группы фитиновой кислоты частично диссоциируют, приобретая по одному или два отрицательных заряда, благодаря чему катионы (в биологических условиях – положительно заряженные ионы металлов, или протонированные аминогруппы) прочно хелатируются двумя или более остатками фосфорной кислоты, а также могут временно образовывать менее прочную ионную связь с одной из фосфатных группой. Поэтому фактически фитиновая кислота представляет собой полидентат-

ный лиганд, хелатирующий катионы путем образования нескольких координационных связей [5].

Фитиновая кислота и ее производные обладают высоким сродством к печеночной ткани, как раз в таком качестве используются в радионуклидной диагностике в качестве гепатотропного комплекса ^{99m}Tc -технефит (НПФ Диамед, Россия) для сцинтиграфии, ОФЭКТ и ОФЭКТ/КТ печени в широком спектре клинических ситуаций [6]. Химический синтез D-мио-инозитол-1, 2, 3, 4, 5, 6-гексакисдигидрофосфорной кислоты возможен, однако она надежно выделяется в химически чистом виде из растительного сырья [7] и наряду с диагностическим применением широко используется самым полезным образом в пищевых и косметологических технологиях [8–11].

Предварительные оценочные квантовохимические расчеты позволили нам предположить возможность образования соединения фитиновой кислоты с ионами марганца (II) с высокой скоростью обмена воды в ближней сольватационной оболочке и высокой спин-решеточной релаксивностью R₁. Попытки использовать для магнитно-резонансной томографии печени соединения такого вещества как фитиновая кислота не предпринимались, и в литературе описаний таких попыток не встречается.

Поэтому в настоящем исследовании мы поставили цель – получить и изучить гепатотропное магнитно-резонансное контрастное соединение на основе Mn-фитата, используя выраженную специфичность фитиновой кислоты к печени и одновременно наличие в этой молекуле (см. рис. 1) по периферии остатков ортофосфорной кислоты, прочно связывающих Mn(II), и в то же время не мешающих быстрому обмену воды в ближайшей сольватационной оболочке. Естественным условием для инъекционной формы было поддержание pH 6,2–7,8. В качестве стабилизатора – буферного вещества был использован меглюмин – наиболее массовый представитель группы веществ, улучшающих стабильность и/или текучесть раствора [12].

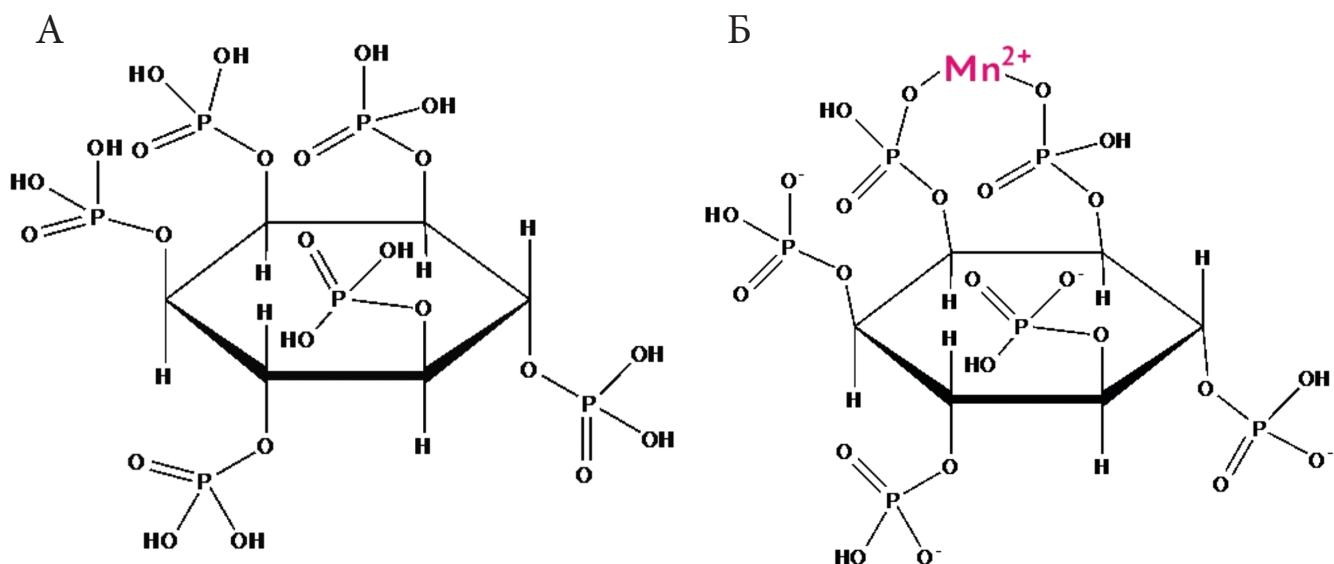


Рис. 1. Структурные формулы D-мио-инозитол-1, 2, 3, 4, 5, 6-гексакисдигидрофосфорной (фитиновой) кислоты, используемой для соединения с марганцем. Действующее начало гепатотропного парамагнитного контрастного средства парамагнитфита – А, и конечный продукт – комплекса Mn-фитата, представляющий собой парамагнитное комплексное соединение с единичным атомом Mn(II) – Б, образующееся в условиях эквимоляльности этих компонент, как в нашем случае, или избытка комплексообразователя в реакционной смеси

Fig. 1. The structural formulas of D-myo-inositol-1, 2, 3, 4, 5, 6-hexakisdihydrophosphoric (phytic) acid used to combine with manganese. The active principle of the hepatotropic paramagnetic contrast agent paramagnifitate – A, and the final product is the Mn – phytate complex, which is a paramagnetic complex compound with a single atom Mn(II) – B, formed under conditions of equimolarity of these components, as in our case, or an excess of the complexing agent in the reaction mixture

Материал и методы

Синтез комплекса гепатотропного магнитно-резонансного контрастного соединения – фитата марганца (II) (рабочее название Фитоманг®), осуществляли путем смешения 1 моля мио-инозиттексафосфорной кислоты (D-мио-инозитол-1, 2, 3, 4, 5, 6-гексакисдигидрофосфорной кислоты – фитиновой кислоты; структурная формула ее представлена на рис. 1А) (молекулярная масса 660,040 г/моль) и 1 моля оксида марганца (II) (молекулярная масса 70,937 г/моль), или, вместо оксида, 1 моля карбоната марганца. Фитиновая кислота была в реакционной смеси в небольшом, 1–2 % избытке (молекулярная масса 114,946 г/моль), в водной среде, при pH 6,4–7,8, с получением в итоге раствора Mn-фитата (структурная формула – см. рис. 1Б), с добавлением стабилизатора – меглюмина, с доведением путем добавления воды для инъекций до концентрации 0,5 М. Препарат стерилизовали фильтрацией через стерильный микрофильтр с размерами пор менее 0,25 мкм, разливали в стерильные стеклянные флаконы, укупоривали, автоклавировали и хранили в темном месте при температуре 4–25 °С.

В течение 3 мес еженедельно хроматографически определялось содержание свободного Mn (II) для оценки возможной диссоциации соединения Mn-фитата при хранении.

Релаксивность R_1 определялась по классическому методу Petersson H. et al, 1988 [13].

Токсичность препарата при однократном остром введении оценивали у лабораторных мышей по стандартной методике с расчетом показателя LD_{50} [14], а визуализационные возможности – у линейных интактных лабораторных крыс линии Wistar массой тела 350–400 г. Раствор фитоманга экспериментальным животным – лабораторным мышам и крысам – вводили внутривенно в сосудистое русло.

Для оценки контрастирующего парамагнитного эффекта Mn-фитата использовали крыс Wistar ($n = 11$) с массой тела более 350 г. Крысы содержались в одинаковых условиях согласно Хельсинкской декларации – международным нормам содержания лабораторных животных. При проведении МР-томографического исследования для обеспечения неподвижности животного и отсутствия стрессорных реакций на исследование перед введением Mn-фитата крысы наркотизировались – всем внутримышечно вводили золетил-100 в дозе 2 мг/100 г веса животного. При визуализационных исследованиях у крыс препарат вводили в дозировке из расчета 1 мл 0,5 М раствора на 10 кг веса тела. Использовали катетеры для периферических вен 29 G. Все МР-томографические исследования были проведены на магнитно-резонансных сканерах Toshiba Vantage Titan (Canon Medical) и Magnetom Open (Siemens Medical). Животное мягко фиксировали и укладывали в РЧ-катушку для исследования головы. В течение часа ежеминутно проводились повторные исследования с применением одного и того же T_1 -взвешенного (T_1 -ВИ) протокола с параметрами сканирования: время повторения TR = 4,4 мс, время эхо TE = 1,9 мс, поле сканирования = 25 × 25 см, толщина среза 3 мм. Затем при количественной обработке полученных значений определяли для областей сердца и крупных сосудов грудной клетки (сосудистый пул) и паренхимы печени величины интенсивности T_1 -ВИ в единицах имп/сек/пиксел и строили соответствующие кривые интенсивность – время.

В качестве препарата сравнения в тех же дозировках использовали Gd-EOB-DTPA. Также для каждого препарата на сроках 30 мин после введения рассчитывался

показатель отношения средней интенсивности сигнала T_1 -ВИ {(Паренхима печени) / Фон}. В качестве фона использовалась область нижней доли правого легкого.

Обработка изображений осуществлялась во всех случаях с помощью пакета прикладных программ Radiant Viewer (Medixant, Познань, Польша), а обработка данных и их графический и статистический анализ – средствами пакета Origin 6.1 (Origin Lab. Texas).

Результаты

Для 0,5 М водного раствора Mn-фитата с добавлением меглюмина значение, LD_{50} при остром введении лабораторным животным – мышам, составляет более 18,7 мл/кг массы тела, что позволяет отнести данное соединение по нормативам ГОСТ 12.001.07–76 к группе 4 – малоопасные вещества.

Константа термодинамической устойчивости составила 17,5, что практически означает отсутствие скольнибудь значимой и даже определимой диссоциации в водных средах при нейтральной и близким к нейтральной pH. Измерения показателя спин-решеточной релаксивности R_1 в водном растворе при магнитной индукции 0,2 Тл показали, что в этом случае $R_1 = 6,82$ 1/мс. В течение трехмесячного срока наблюдения за полученным соединением с хроматографической оценкой состава раствора не отмечалось выхода свободного Mn(II), так что как в начале, так и в конце этого срока доля свободного Mn(II) не превышала 0,079 %.

После введения внутривенно здоровым крысам с сохранной функцией печени Mn-фитат распределяется в кровеносном русле, с последующимmonoэкспоненциальным клиренсом и быстрым поглощением в течение первых 5 мин тканью печени (рис. 2, 3), с фракцией экстракции $87 \pm 5\%$, с последующим частичным, до 3–7 %, выведением в желчные пути крысы и затем в кишечник спустя 30 мин (рис. 3А).

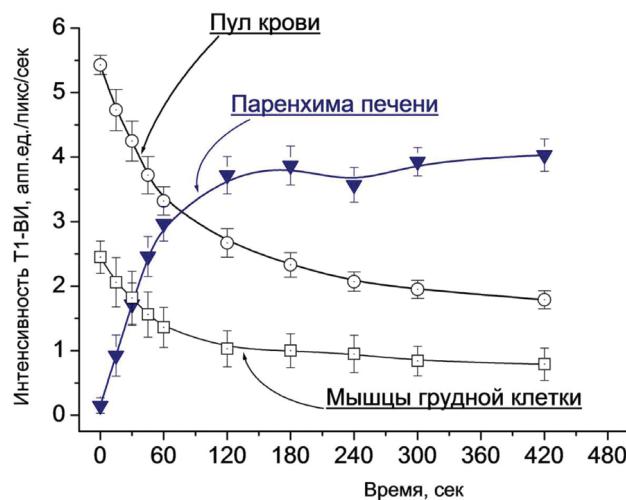


Рис. 2. Кривые динамики клиренса крови и печеночного накопления Mn-фитата у лабораторных крыс при внутривенном введении. Интенсивность T_1 -ВИ представлена как аппаратные единицы интенсивности изображения в секунду на пиксел. Также представлена кривая для области мышц плечевого пояса – грудной клетки крысы. Можно видеть, что она практически параллельна клиренсу крови, что указывает на отсутствие мышечного накопления Mn-фитата

Fig. 2. Curves of dynamics of blood clearance and hepatic accumulation of Mn-phytate in laboratory rats with intravenous administration. T_1 -WI intensity is represented as hardware units of image intensity per second per pixel. A curve is also presented for the area of the muscles of the shoulder girdle – the chest of a rat. It can be seen that it is almost parallel to blood clearance, which indicates the absence of muscle accumulation of Mn-phytate

На рис. 3 приведены МР-томограммы интактных животных через 20 мин после введения препарата в сравнении с классическим парамагнетиком для визуализации печени – Gd-EOB-ДТПА (Примовистом®). Справа (А) представлена коронарная МР-томограмма тела лабораторного животного после введения крысе массой тела 370 г 0,5 М раствора Mn-фитата. Слева (Б) – коронарная МР-томограмма тела животного после введения крысе массой 350 г Gd-EOB-ДТПА, в соответствии с формулляром препарата Примовист®.

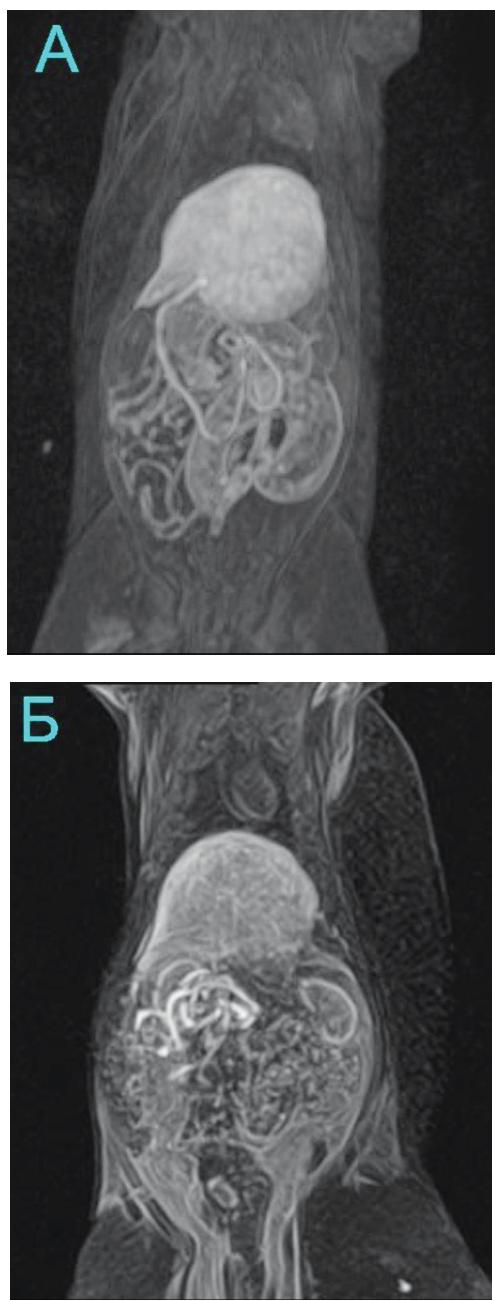


Рис. 3. Сравнительная картина парамагнитного контрастного усиления T_1 -ВИ органов грудной клетки и брюшной полости с подавлением сигнала от жировой ткани, при введении экспериментальному животному (крысы линии Wistar, массой тела 370 г), из расчета 1 мл 0,5 М раствора на 10 кг веса тела, Mn-фитата (А) и Gd-EOB-ДТПА (Б)

Fig. 3. Comparative picture of paramagnetic contrast enhancement of T_1 -WI of the chest and abdominal organs, with suppression of the signal from adipose tissue, when administered to an experimental animal (Wistar rats, body weight 370 g), as 1 ml of 0.5 M solution per 10 kg of body weight, Mn-phytate (A) and Gd-EOB-DTPA (B)

Можно видеть (рис. 3А, Б), что при введении раствора Mn-фитата достигается относительно более высокая интенсивность визуализации печени, повышенная контрастность и одновременно – меньшее накопление препарата в области сердца. При исследовании с Mn-фитатом сердце как таковое практически не видно, тогда как при исследовании с Gd-EOB-ДТПА вполне хорошо виден миокард – подковообразной формы. Однако при этом суммарное количество поглощенного паренхимой печени в том и другом случае достоверно не отличались, составляя $64 \pm 5\%$ от полной дозы для Gd-EOB-ДТПА и $72 \pm 7\%$ для 0,5 М Mn-фитата. Индекс отношения средней интенсивности сигнала T_1 -ВИ {Паренхима печени} / Фон при расчете на 30 мин после введения для Mn-фитата составил $9,3 \pm 2,3$, а для Gd-EOB-DTPA – $8,7 \pm 2,1\%$.

Обсуждение

Разработка новых и в первую очередь органоспецифичных парамагнитных контрастных препаратов является одним из важнейших направлений лучевой диагностики [1]. С использованием в качестве парамагнетика такого элемента, как Gd(III) удалось достичь несомненного успеха – создания гепатоспецифического парамагнитного контрастного препарата Gd – ЕОВ – DTPA (примовист) который с высокой органной фракцией накапливается в паренхиме печени [1]. Также определенные надежды в качестве ангиографического контрастного препарата вызывает такой комплекс, как гадофосвесета тринатриевая соль (вазовист), который длительное время удерживается во внутрисосудистом пуле и обеспечивает эффективное проведение разнообразных ангиографических исследований. Однако получить другие органотропные препараты с использованием гадолиниевых комплексов, например обладающие повышенной тропностью к тканям злокачественных новообразований, пока не удается, что обусловлено сложностями комплексообразования с гадолинием и обеспечением невозможности его выхода в свободном виде, поскольку свободный гадолиний является достаточно высокотоксичным и, в частности, предполагается причиной неспецифического фиброза [15].

Определенным решением здесь безусловно может быть использование комплексов марганца (II), который, хотя и уступает несколько гадолинию по парамагнитным свойствам и релаксивности R_1 в разных средах на 12–15 % [16], однако при этом Mn(II) является естественным микроэлементом человеческого организма, присутствует в плазме крови, является активным центром многих ферментов, а по стандартному показателю LD_{50} существенно менее токсичен, нежели гадолиний [17]. Доказана возможность парамагнитного селективного контрастирования в эксперименте при экспериментальных саркомах опорно-двигательного аппарата с Mn-ГМПАО [18]. Верно и обратное – комплексообразователи, разработанные первоначально в качестве парамагнетиков с высоким сродством к Mn(II), метятся ^{99m}Tc -пертехнетатом с высоким сродством [4].

Попытка использования в качестве гепатотропного контраста-парамагнетика Mn(II)-фитата тем более интересна, что предполагает формирование гепатоспецифического комплекса с марганцем на основе не общепринятых поликаетатных соединений (как например тот же Gd-EOB-DTPA), а D-мио-инозитол-1, 2, 3, 4, 5, 6-гексакисдигидрофосфорной кислоты, сложного эфира циклической молекулы мио-инозита и шести остатков ортофосфорной кислоты, которые и обеспечивают координационное связывание Mn(II).

В нашем случае оказалось, что полученное соединение фитоманг синтезируется в ходе производственного процесса в один этап, при эквимоляльном соединении марганца и фитиновой кислоты, с 1–2 % избытком последней в реакционной среде, с последующими очисткой методом микрофильтрации и добавлением маглюмина как буферного вещества. Оно вполне устойчиво при хранении в темноте в условиях комнатной температуры, обладает высокой спин-спиновой релаксивностью R_1 , нетоксично – принадлежит к группе 4 (малоопасные вещества) по ГОСТ 12.1.007-76.

Степень поглощения печенью составляет $72 \pm 7\%$ от введенной дозы у здоровых экспериментальных животных – крыс Вистар, что предполагает практически полную гепатоселективность этого соединения, а на долю селезенки пришлось лишь $9 \pm 3\%$. При этом качество визуализации печени примерно идентично таковому при использовании как препарата сравнения гепатоселективного контраста-парамагнетика Gd-EOB-DTPA (Примовист®) – рис. 3.

Поскольку Mn-фитат захватывается исключительно печенью и селезенкой, с высокой фракцией экстракции (рис.2) и практически без обратной диффузии в кровь и без быстрого выведения в желчные пути и кишечник, это открывает возможность использования его для точного расчета среднего печеночного кровотока с использованием метода Б.Я. Наркевича (1994) [19], как отношения введенной активности препарата к площади под кривой (ППК) клиренса препарата из крови, при условии возможности получения и количественного анализа кривой в единицах мг/л или мг/мл. Кривая клиренса крови для Mn-фитата (рис. 2) имеет вид экспоненты $y = B_0 \times \exp(-\beta t)$, и такой расчет несложен [20]: *Общий печеночный кровоток = (Введенная доза ПМКС) / (B₀ / β)*. Также возможно и применение методик расчета параметров локального кровотока в различных отделах печени на основе фармакокинетических моделей по скорости локального поглощения Mn-фитата относительно скорости его клиренса из крови [6].

Высокая термодинамическая устойчивость Mn-фитата, а также включение в состав контрастной композиции такого типичного для инъекционных форм стабилизатора, как маглюмин, обеспечивали стабильность раствора парамагнитного контрастного соединения Mn-фитата как минимум в течение 3 мес. В настоящее время ведется уже полное исследование в соответствии с требованиям к вновь регистрируемым инъекционным диагностическим и лекарственным средствам, и первые данные указывают, что имеет место устойчивость соединения в течение намного больших сроков хранения.

Очевидно, что в условиях избытка оксида или карбоната марганца, которые используются в качестве ис-

точника Mn(II) при синтезе Mn(II) – фитата, возможно и формирование комплексов со связыванием и двух и трех ионов марганца с одной молекулой фитиновой кислоты, за счет шести остатков ортофосфорной кислоты (рис. 1). Предположительно-оценочный квантовохимический анализ таких комплексов позволяет предполагать, что их релаксивность R_1 должна быть резко выше, чем при получении контраста-парамагнетика при соединении эквимоляльных количеств реагента. Это может быть в дальнейшем источником получения органоспецифических соединений с более высокой релаксивностью R_1 и соответственно – лучшими контрастирующими свойствами.

Настоящее исследование имело своей целью лишь принципиальную оценку предположения о возможности парамагнитного контрастирования при МРТ печени с высокой органной селективностью с помощью синтезированного нами Mn(II)-фитата. Это предположение следует считать подтвержденным по представленным данным. Для полноценного клинического внедрения абсолютно необходимо также оценить визуализационную картину МРТ основных заболеваний печени при контрастировании Mn(II)-фитатом. Такое изучение сейчас ведется. Кроме того, исключительно важно выяснить, возможно ли использовать Mn(II)-фитат в качестве наноколлоидного препарата для метки клеток крови, а также для МРТ-визуализации сторожевых лимфатических узлов, как это выполняется с использованием ^{99m}Tc-технефита при ОФЭКТ/КТ [21–23]. В ближайшие месяцы и эти фрагменты изучения будут осуществлены.

Однако уже сегодня можно обоснованно утверждать, что использование замещения марганцем (II) технеция-99m в составе комплексных соединений, первоначально разработанных для получения радиофармпрепараторов, позволяет в результате синтезировать органоспецифичные парамагнитные соединения, которые, как минимум, позволяют получить принципиально новую визуально-функциональную информацию именно органного характера, и в первую очередь – в гепатологии.

Заключение

Таким образом, впервые полученное гепатотропное парамагнитное комплексное соединение Mn(II)-фитат (фитоманг) оказалось в эксперименте *in vivo* пригодным для парамагнитного контрастирования при МРТомографической визуализации паренхимы печени, и может быть в ближайшей перспективе использовано для получения гепатоспецифического парамагнитного контрастного препарата для экспериментальных и клинических МРТ-исследований и диагностики заболеваний и поражений печени, причем по своему составу он оказался лишенным риска токсикологических осложнений, связанных с Gd(III).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Шимановский Н.Л. Диагностика заболеваний и функции гепатобилиарной системы с помощью гадоксетовой кислоты (Примовист®) // Медицинский алфавит. 2013. Т.3-4. № 23. С. 47-52.
- Chen Z., Yu D., Liu C., Yang X., Zhang N., Ma C., Song J., Lu Z. Gadolinium-Conjugated PLA-PEG Nanoparticles as Liver Targeted Molecular MRI Contrast Agent // J Drug Target. 2011. V.19. No.8. P. 657-65. doi:10.3109/1061186X.2010.531727.
- Haimerl M., Verloch N., Fellner C., Zeman F., Teufel A., Fichtner-Feigl S., Schreyer A.G., Stroszczynski C., Wiggermann P. MRI-Based Estimation of Liver Function: Gd-EOB-DTPA-Enhanced T1 Relaxometry of 3T vs. the MELD Score // Sci Rep. 2014. No.4. P. 5621. doi:10.1038/srep05621.
- Белянин М.Л., Подъяблонский А.С., Бородин О.Ю., Белов М.В., Карпов Е.Н., Филимонов В.Д., Шимановский Н.Л., Усов В.Ю. Синтез и доклиническая оценка визуализационных возможностей ^{99m}Tc-ДТПА-ГДОФ как нового отечественного гепатотропного препарата для сцинтиграфических и ОФЭКТ-исследований // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2022. Т.67. №6. С.44-50. doi:10.33266/1024-6177-2022-67-6-44-50. EDN BQPVQN.
- Пенчева И.Д., Обрешкова Д.П., Пейкова Л.П., Папанов С.И., Петкова Е.Г., Иванов К.В., Петров Г.Й., Трайкова Н.И., Божкова М.К., Панкова С.А., Григоров Л.Д. Комплексообразование фитина с железными и кальциевыми иона-

ми (спектрометрическое исследование) // Современная медицина: актуальные вопросы. 2013. №20. С.123-130. EDN QCXKUN.

6. Знаменский И.А., Левчук А.В., Милькин В.В., Румянцев О.И. Диагностическая информация при однократном введении 99m Tc-Технефит // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2008. Т.53. №2. С.31-34. EDN JSARPZ.
7. Бутова С.Н., Гаскарова О.В. Отработка технологии получения фитиновой кислоты из растительного сырья // Проектная культура и качество жизни. 2015. №1. С.547-551. EDN YTZOMA.
8. Arriero M. del M., Ramis J.M., Perelló J., Monjo M. Inositol Hexakisphosphate Inhibits Osteoclastogenesis on RAW 264.7 Cells and Human Primary Osteoclasts // PLoS One. 2012. V.7. No.8. P. e43187. doi:10.1371/journal.pone.0043187.
9. Ших Е.В., Махова А.А., Дорогун О.Б., Елизарова Е.В. Роль фитатов в питании человека // Вопросы питания. 2023. Т.92. № 4. С. 20-28. doi:10.33029/0042-8833-2023-92-4-20-28. EDN DVQTFW.
10. López-González A.A., Grases F., Roca P., Mari B., Vicente-Herrero M.T. Phytate (Myo-inositol Hexaphosphate) and Risk Factors for Osteoporosis // Journal of Medicinal Food. 2012. V. 11. No.4. P. 747-752. doi:10.1089/jmf.2008.0087.
11. Johnson L.F., Tate M.E. Structure of Phytic Acids // Canadian Journal of Chemistry Animal. 1969. V.47. No.1. P.63-73
12. Петров А.Ю., Заплутанов В.А., Бизенкова М.Н., Романцов М.Г., Коваленко А.Л. Фармакологическая активность мепномина натрия сукцината при моделировании повреждения печени различными инициирующими агентами // Фундаментальные исследования. 2011. Т.10. №2. С.345-350. EDN OFYSCV.
13. Pettersson H., Slone R.M., Spanier S., Gillespie Th., Fitzsimmons J.R., Scott K.N. Musculoskeletal Tumors: T1 and T2 Relaxation Times Measurement Using Conventional 1,5T Scanner // Radiology. 1988. No.167. P.783-785.
14. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У.Хабриева М.: Медицина, 2005. 832 с. ISBN 5-225-04219-8. EDN QCPIOB.
15. Панов В.О., Шимановский Н.Л. Имеет ли клиническое значение стабильность гадолиний-содержащих магнитно-резонансных контрастных средств? // Вестник рентгенологии и радиологии. 2016. Т.97. №4. С. 243-256. EDN WKNXDN.
16. Бородин О.Ю., Белянин М.Л., Семичев Е.В., Бушланов П.С., Саников М.Ю., Филимонов В.Д., Шимановский Н.Л., Усов В.Ю. Исследование зависимости релаксивности R1 и R2 парамагнитных комплексных соединений марганца от химической структуры // Известия вузов. Физика. 2015. Т.58. №12-2. С. 31-35. EDN VRFTAR.
17. Скальный А.В., Киричук А.А. Химические элементы в экологии, физиологии человека и медицине. М.: Российский университет дружбы народов, 2020. 209 с. ISBN 978-5-209-10387-5. EDN QGLPNM.
18. Усов В.Ю., Белянин М.Л., Филимонов В.Д., Данилец М.Г., Мильто И.В., Веснина Ж.В., Зоркальцев М.А., Лучич М.А., Шимановский Н.Л. Теоретическое обоснование и экспериментальное исследование комплекса Mn(II) с гексаметилпропиленаминоксимом в качестве парамагнитного контрастного препарата для визуализации злокачественных новообразований // Лучевая диагностика и терапия. 2019. Т.2. №10. С. 42-49. doi: 10.22328/2079-5343-2019-10-2-42-49. EDN TTYNGH.
19. Наркевич Б.Я. Технические основы циркулярного моделирования в радионуклидных исследованиях гемодинамики // Медицинская радиология. 1994. Т. 39. № 5. С. 58-64.
20. Peters AM. The Kinetic Basis of Glomerular Filtration Rate Measurement and New Concepts of Indexation to Body Size // Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2004. V.31. No.1. P.137-49. doi: 10.1007/s00259-003-1341-8. Epub 2003 Oct 31. PMID: 14593500.
21. Михайлов Т.Г., Мигунова Е.В., Ярцев П.А., Хамидова Л.Т., Петриков С.С., Алавердян А.И., Говоров А.В., Пушкарь Д.Ю., Буданова О.П., Кузнецова Л.В., Малышев И.Ю. Распределение и удержание аутологичных лейкоцитов после их введения в простату больных раком предстательной железы // Патогенез. 2022. Т.20. №2. С.19-28. doi: 10.25557/2310-0435.2022.02.19-28. – EDN MAWSFI.
22. Ермаков А.В., Зикиряходжаев А.Д., Лазутина Т.Н., Леонтьев А.В., Волченко Н.Н., Беляков М.М., Каприн А.Д., Костин А.А. Методика непрямой лимфосцинтиграфии с использованием радиофармпрепарата «Технефит 99m Tc» для определения путей лимфооттока и биопсии сторожевых лимфатических узлов при хирургическом лечении больных раком молочной железы и меланомой кожи // Злокачественные опухоли. 2016. Т.3. №19. С.63-76. doi: 10.18027/2224-5057-2016-3-63-76. – EDN YTWPQX.
23. Родионов В.В., Кометова В.В., Сенча А.Н., Корнев А.И., Бикеев Ю.В., Гайлиш Ю.П., Хияева В.А., Родионова М.В. Биопсия сигнальных лимфоузлов у больных раком молочной железы // Акушерство и гинекология. 2018. №12. С.111-116. doi: 10.18565/aig.2018.12.III-116. EDN YSFXCX.

REFERENCES

1. Shimanovskiy N.L. Diagnostics of Diseases and Functions of the Hepatobiliary System Using Gadoxetic Acid (Primovist®). *Meditinskij Alfavit* = Medical Alphabet. 2013;3-4;23:47-52 (In Russ.).
2. Chen Z., Yu D., Liu C., Yang X., Zhang N., Ma C., Song J., Lu Z. Gadolinium-Conjugated PLA-PEG Nanoparticles as Liver Targeted Molecular MRI Contrast Agent. J Drug Target. 2011;19;8:657-65. doi:10.3109/1061186X.2010.531727.
3. Haimerl M., Verloh N., Fellner C., Zeman F., Teufel A., Fichtner-Feigl S., Schreyer A.G., Stroszczynski C., Wiggemann P. MRI-based Estimation of Liver Function: Gd-EOB-DTPA-Enhanced T1 Relaxometry of 3T vs. the MELD Score. Sci Rep. 2014 Jul 8;4:5621. doi:10.1038/srep05621.
4. Belyanin M.L., Pod'yablonskiy A.S., Borodin O.YU., Belousov M.V., Karpov Ye.N., Filimonov V.D., Shimanovskiy N.L., Usov V.YU. Synthesis and Preclinical Evaluation of Imaging Abilities of 99m Tc-DTPA-GDOF as a New Original Russian Hepatotropic Agent for Scintigraphy and SPECT Studies. *Meditinskaya Radiologiya i Radiatsionnaya Bezopasnost'* = Medical Radiology and Radiation Safety. 2022;67;6:44-50 (In Russ.). doi:10.33266/1024-6177-2022-67-6-44-50. EDN BQPVQN.
5. Pencheva I.D., Obreshkova D.P., Peykova L.P., Papanov S.I., Petkova Ye.G., Ivanov K.V., Petrov G.Y., Traykova N.I., Bozhkova M.K., Pankova S.A., Grigorov L.D. Complexation of Phytin with Iron and Calcium Ions (Spectrometric Study). *Sovremennaya Meditsina: Aktual'nyye Voprosy* = Modern Medicine: Current Issues. 2013;20:123-130. (In Russ.). EDN QCXKUN.
6. Znamenskiy I.A., Levchuk A.V., Mil'kin V.V., Rumyantsev O.I. Diagnostic Information during Single Administration Of 99m Tc-Technefit. *Meditinskaya Radiologiya i Radiatsionnaya Bezopasnost'* = Medical Radiology and Radiation Safety. 2008;53;2:31-34 (In Russ.). EDN JSARPZ.
7. Butova S.N., Gaskarova O.V. Development of Technology for Obtaining Phytic Acid from Vegetable Raw Materials. *Projekt-naya Kul'tura i Kachestvo Zhizni* = Project Culture and Quality of Life. 2015;1:547-551 (In Russ.). EDN YTZOMA.
8. Arriero M. del M., Ramis J.M., Perelló J., Monjo M. Inositol Hexakisphosphate Inhibits Osteoclastogenesis on Raw 264.7 Cells and Human Primary Osteoclasts. PLoS One. 2012;7;8:e43187. doi:10.1371/journal.pone.0043187.
9. Shikh Ye.V., Makhova A.A., Dorogun O.B., Yelizarova Ye.V. The Role of Phytates in Human Nutrition. *Voprosy Pitaniya* = Problems of Nutrition. 2023;92;4:20-28 (In Russ.). doi:10.33029/0042-8833-2023-92-4-20-28. EDN DVQTFW.
10. López-González A.A., Grases F., Roca P., Mari B., Vicente-Herrero M.T. Phytate (Myo-Inositol Hexaphosphate) and

Risk Factors for Osteoporosis. *Journal of Medicinal Food*. 2012;11;4:747–752. doi:10.1089/jmf.2008.0087.

11. Johnson L.F., Tate M.E. Structure of Phytic Acids. *Canadian Journal of Chemistry Animal*. 1969;47;1:63-73.

12. Petrov A.Yu., Zaplutanov V.A., Bizenkova M.N., Romantsov M.G., Kovalenko A.L. Pharmacological Activity of Sodium Meglumine Succinate in Modelling of Liver Damage by Various Initiative Agents. *Fundamental'nyye Issledovaniya* = Fundamental Research. 2011;10-2:345-350. (In Russ.). EDN OFYSCV.

13. Pettersson H., Slone R.M., Spanier S., Gillespie Th., Fitzsimmons J.R., Scott K.N. Musculoskeletal Tumors: T1 and T2 Relaxation Times Measurement Using Conventional 1,5T Scanner. *Radiology*. 1988;167:783–785.

14. *Rukovodstvo po Eksperimental'nomu (Doklinicheskому) Izucheniyu Novykh Farmakologicheskikh Veshchestv* = Guidelines for the Experimental (Preclinical) Study of New Pharmacological Substances. Ed. R.U.Khabriev. Moscow, Meditsina Publ., 2005. 832 p. (In Russ.) ISBN 5-225-04219-8. EDN QCI-IOB.

15. Panov V.O., Shimanovskiy N.L. Has the Stability of Gadolinium Based Magnetic Resonance Contrast Media the Clinical Significance? *Vestnik Rentgenologii i Radiologii* = Bulletin of Roentgenology and Radiology. 2016;97;4:243-256 (In Russ.). EDN WKNXDN.

16. Borodin O.YU., Belyanin M.L., Semichev Ye.V., Bushlanov P.S., Sannikov M.YU., Filimonov V.D., Shimanovskiy N.L., Usov V.Yu. Dependency of Relaxivity R1 and R2 of the Complex Paramagnetic Manganese Compounds on the Chemical Structure. *Izvestiya Vuzov. Fizika* = Bulletin of Universities. Physics. 2015;58;12-2:31-35. EDN VRFTAR.

17. Skal'nyy A.V., Kirichuk A.A. *Khimicheskiye Elementy v Ekologii, Fiziologii Cheloveka i Meditsine* = Chemical Elements in Ecology, Human Physiology and Medicine. Moscow, Peoples' Friendship University of Russia Publ., 2020. 209 p. (In Russ.). EDN QGLPNM

18. Usov V.YU., Belyanin M.L., Filimonov V.D., Danilets M.G., Mil'to I.V., Vesnina ZH.V., Zorkal'tsev M.A., Luchich M.A., Shimanovskiy N.L. Theoretical Basis and Experimental Study of Complex of Manganese (II) with Hexamethyl-Propylene-amin-Oxime as Paramagnetic Contrast Agent for MR-Imaging of Malignant Tumors. *Luchevaya Diagnostika i Terapiya* = Diagnostic Radiology and Radiotherapy. 2019;2;10:42-49 (In Russ.). DOI 10.22328/2079-5343-2019-10-2-42-49. EDN TTYNNGH.

19. Narkevich B.Ya. Theoretical Foundations of Circulation Modeling in Radionuclide Studies of Hemodynamics. *Medical Radiology*. 1994; 39(5):58=64 (In Russ.).

20. Peters AM. The Kinetic Basis of Glomerular Filtration Rate Measurement and New Concepts of Indexation to Body Size. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2004;31;1:137-49. doi: 10.1007/s00259-003-1341-8. Epub 2003 Oct 31. PMID: 14593500.

21. Mikhaylikov T.G., Migunova Ye.V., Yartsev P.A., Khamidova L.T., Petrikov S.S., Alaverdyan A.I., Govorov A.V., Pushkar' D.YU., Budanova O.P., Kuznetsova L.V., Malyshev I.Yu. Distribution and Retention of Autologous Leucocytes after their Injection into the Prostatic Venous Plexus of Patients with Prostate Cancer. *Patogenet* = Pathogenesis. 2022;20;2:19-28 (In Russ.). DOI 10.25557/2310-0435.2022.02.19-28. EDN MAWSFI.

22. Yermakov A.V., Zikiryakhodzhayev A.D., Lazutina T.N., Leont'yev A.V., Volchenko N.N., Belyakov M.M., Kaprin A.D., Kostin A.A. Sentinel Lymph Nodes Biopsy in Early Breast Cancer and Melanoma Patients Using "Technefit ^{99m}Tc" Radioactive Colloid Technetium ^{99m}Tc. *Zlokachestvennyye Opukholi* = Malignant Tumors. 2016;3;19:63-76 (In Russ.). DOI 10.18027/2224-5057-2016-3-63-76. EDN YTWPQX.

23. Rodionov V.V., Kometova V.V., Sencha A.N., Kornev A.I., Bikayev Yu.V., Gaylish Yu.P., Khiyayeva V.A., Rodionova M.V. Sentinel Lymph Node Biopsy in Patients with Breast Cancer. *Akusherstvo i Ginekologiya* = Obstetrics and Gynecology. 2018;12:111-16 (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.12.111-116>. EDN YSFXCX.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.
Поступила: 20.07.2024. Принята к публикации: 25.09.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study had no sponsorship.

Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.
Article received: 20.07.2024. Accepted for publication: 25.09.2024.