

DOI: 10.24835/1607-0763-2019-3-133-143

## Получение, квантово-химический анализ и доклиническая *in vivo* оценка МРТ-визуализирующих свойств парамагнитного комплекса марганца с 2,3-димеркаптоянтарной кислотой (сукциманга)

Усов В.Ю.<sup>1,2\*</sup>, Филимонов В.Д.<sup>1</sup>, Белянин М.Л.<sup>1</sup>, Безлепкин А.И.<sup>3</sup>, Лучич М.А.<sup>4</sup>, Коваленко А.Ю.<sup>2</sup>, Роговская Ю.В.<sup>2</sup>, Шимановский Н.Л.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия

<sup>2</sup> НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН, Томск, Россия

<sup>3</sup> ООО Ветеринарная клиника "Айболит", Томск, Россия

<sup>4</sup> Центар за Имиджинг Диагностику, Институт у Сремской Каменици, Нови Сад, Сербия

<sup>5</sup> Российский Национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

## Synthesis, quantum chemistry analysis and pre-clinical *in vivo* evaluation of magnetic resonance imaging abilities of paramagnetic manganese complex with 2,3-dimercaptosuccinate (succimang)

Ussov W.Yu.<sup>1,2\*</sup>, Filimonov V.D.<sup>1</sup>, Belyanin M.L.<sup>1</sup>, Bezlepkin A.I.<sup>3</sup>, Lucic M.A.<sup>4</sup>, Kovalenko A.Yu.<sup>2</sup>, Rogovskaya Yu.V.<sup>2</sup>, Shimanovsky N.L.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup> Research Institute of Cardiology of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

<sup>3</sup> Veterinary research clinic "Aibolit" Ltd, Tomsk, Russia

<sup>4</sup> Center of Imaging Diagnostic, Institute in Sremska Kamenica, Serbia

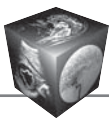
<sup>5</sup> Russian National Research N.I.Pirogov Medical University, Moscow, Russia

**Цель исследования:** осуществить синтез комплекса Mn(II) с димеркаптоянтарной кислотой (ДМСА), средствами квантово-химического анализа оценить наиболее устойчивую структуру комплекса Mn с ДМСА и изучить накопление и контрастирующие свойства этого контраста-парамагнетика в структурах опухолевых и нормальных тканей у животных – ветеринарных пациентов (кошек с опухолями).

**Материал и методы.** Синтез 2,3-димеркаптоянтарной кислоты (COOH-CHSH-CHSH-COOH) был осу-

ществлен по модифицированной методике А.И. Бусева. По данным фантомных экспериментов определяли релаксивность R1. Визуализирующие возможности 0,5 М раствора Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> оценивали при МРТ в T1-взвешенном спин-эхо режиме МРТ у животных – ветеринарных пациентов (кошек) с опухолями (ангиофибромы и фиброаденомы, 9 животных).

**Результаты.** В результате квантово-химического анализа было установлено, что наиболее устойчивой является молекула комплекса Mn-(ДМСА)<sub>2</sub>. Релак-



сивность R1 комплекса Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> в водном растворе оказалась 3,2 1/(мМ·с), что соответствовало ранее полученным результатам. В норме Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> обеспечивает выраженное усиление паренхимы почек и умеренное – ткани печени, селезенки и тел позвонков. У животных с опухолями Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> выражено усиливал T1-взвешенное МРТ-изображение как периферических (индекс усиления = 1,87 ± 0,09, p < 0,01), так и центральных (индекс усиления = 1,59 ± 0,07, p < 0,01) отделов опухолей.

**Заключение.** Визуализационные свойства Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> указывают на возможность создания на основе комплексов марганца парамагнитных контрастных препаратов, тропных к новообразованиям. Целесообразно дальнейшее исследование Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> для создания парамагнитного контрастного препарата.

**Ключевые слова:** МРТ, парамагнитное контрастирование, парамагнитное марганцевое усиление МРТ, Mn-ДМСА, доклинические исследования, визуализация опухолей.

**Ссылка для цитирования:** Усов В.Ю., Филимонов В.Д., Белянин М.Л., Безлепкин А.И., Лучич М.А., Коваленко А.Ю., Роговская Ю.В., Шимановский Н.Л. Получение, квантово-химический анализ и доклиническая *in vivo* оценка МРТ-визуализирующих свойств парамагнитного комплекса марганца с 2,3-димеркаптоантарной кислотой (сукциманга). *Медицинская визуализация*. 2019; 23 (3):133–143. DOI: 10.24835/1607-0763-2019-3-133-143.

\*\*\*

**Aim of the study.** We have carried out the synthesis of complex of Manganese(II) with dimercaptosuccinic acid (DMSA), applied the quantum chemistry analysis for evaluation of most stable form of the Mn- DMSA complex and studied it's uptake and imaging properties in normal and tumoral tissues in veterinary patients (cats with tumors)

**Material and methods.** The synthesis of the 2,3-dimercaptosuccinic acid (COOH-CHSH-CHSH-COOH) has been carried out using modified technique proposed by A.I. Busev [Busev A.I. 1972]. Using phantoms filled in with 0.05 mM – 16 mM solutions of the agent we quantified the R1 relaxivity. Imaging properties of the 0.5 M solution of the Mn-(DMSA)<sub>2</sub> were evaluated when performing the contrast-enhanced studies in veterinary patients (cats with adenofibrous tumors and angiofibromas, nine animals) using T1-w spin-echo mode.

**Results.** As result of quantum chemistry analysis it was shown that the most stable complex of Mn(II) with DMSA is the molecule Mn-(DMSA)<sub>2</sub>. The R1 relaxivity of the Mn-(DMSA)<sub>2</sub> complex in the water solution was as high as 3.2 1/(mM\*s). In normal control animals the Mn-(DMSA)<sub>2</sub> provided highly intensive enhancement of renal parenchyma and mild enhancement of liver, spleen and bone marrow. In animals with tumors the Mn-(DMSA)<sub>2</sub> enhanced the T1-w spin-echo images of angiofibromas and fibroadenomas in both peripheral (index of enhancement = 1.87 ± 0.09, p < 0.01) and central (index of enhancement = 1.59 ± 0.07, p < 0.01) parts of the tumor.

**Conclusion.** The imaging properties of the Mn-(DMSA)<sub>2</sub> make an argue for real possibility of production of new non-Gadolinium paramagnetic contrast agents specific to tumors. Further study of the Mn-(DMSA)<sub>2</sub> complex as paramagnetic contrast agent is of interest and useul.

**Keywords:** contrast-enhanced MRI, manganese-enhanced MRI, MEMRI, Mn-DMSA, pre-clinical studies, tumor imaging.

**Recommended citation:** Ussov W.Yu., Filimonov V.D., Belyanin M.L., Bezlepin A.I., Lucic M.A., Kovalenko A.Yu., Rogovskaya Yu.V., Shimanovsky N.L. Synthesis, quantum chemistry analysis and pre-clinical in vivo evaluation of magnetic resonance imaging abilities of paramagnetic manganese complex with 2,3-dimercaptosuccinate (succimang). *Medical Visualization*. 2019; 23 (3):133–143. DOI: 10.24835/1607-0763-2019-3-133-143.

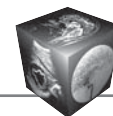
\*\*\*

## Введение

Совершенствование и разработка визуализационных возможностей новых парамагнитных контрастных препаратов являются неизменно одним из ключевых направлений развития магнитно-резонансной томографии (МРТ) [1]. Химическим элементом, близким по парамагнитным свойствам с наиболее широко используемым в МРТ гадолинием(III), является марганец(II), который расположен в одной группе таблицы Менделеева с Tc и Re, в свою очередь широко применяемыми в соединении с различными комплексообразователями в радионуклидной диагностике (<sup>99m</sup>Tc) и в радионуклидной терапии (<sup>188</sup>Re) [2]. Поэтому рационально полагать, что комплексообразователи, первоначально созданные для соединения с <sup>99m</sup>Tc и используемые в радионуклидной диагностике, могли бы вступать в прочные комплексные соединения и с Mn [3].

Ранее нам удалось на материале животных с опухолевыми поражениями лицевого черепа показать, что комплекс Mn с димеркаптоантарной кислотой (обозначается как ДМЯК, ДМСА, сукцимер) обладает эффективными контрастирующими опухоль свойствами [4]. ДМСА является уникальным хелатирующим соединением, впервые была синтезирована В.Л. Ниренбург на кафедре органической химии Уральского политехнического института в конце 1940-х годов [5]. То, что собственно ДМСА проявляет четко выраженное защитное действие при отравлении животных соединениями мышьяка и ртути, образуя устойчивые комплексы As-ДМСА и Hg-ДМСА, было впервые показано И.Е. Окопишниковой еще в 1962 г. [5], и сегодня ДМСА получила широкое признание как детоксикант при отравлении токсичными солями металлов под торговым названием *Сукцимер* [6]. В настоящем исследовании мы изучили возможность МРТ-визуализации опухолей с применением парамагнитного комплекса Mn-ДМСА для фиброаденом и ангиофибром животных – ветеринарных пациентов.

Для этого мы осуществили собственно синтез комплекса Mn(II) с ДМСА, средствами квантово-



химического анализа оценили наиболее устойчивую структуру комплекса Mn с ДМСА и изучили накопление и контрастирующие свойства этого контраста-парамагнетика в структурах опухолевых и нормальных тканей у животных.

## Материал и методы

**Получение комплекса Mn-ДМСА (сукциманга)** осуществлялось по модифицированной методике А.И. Бусева [7] с первоначальным получением из ацетилендикарбоновой кислоты 2,3-диацидимеркаптоянтарной кислоты с последующим кипячением ее с 1% соляной кислотой. При охлаждении вслед за этим выделялась с выходом 33% 2,3-димеркаптоянтарная кислота – (COOH-CHSH-CHSH-COOH). Температура ее плавления 190–192 °С (с разложением после перекристаллизации из 50% метанола).

Квантово-химический анализ возможных форм комплекса Mn-ДМСА в водном растворе, получающихся при соединении димеркаптоянтарной кислоты и оксида марганца(II), был осуществлен методом функционала плотности DFT  $rb3lyp/6-31+g(d,p)$  для изолированных молекул и водных растворов (метод поляризованного проводящего диэлектрического континуума – CPCM) [8, 9]. В нижеследующих химических формулах для обозначения ДМСА – димеркаптосукцината – используется также и латинское обозначение DMSA.

Релаксивность полученного соединения определялась в фантомных экспериментах по классической методике Н. Pettersson и соавт. [10]. А именно, для определения R1 проводились спин-эхо МРТ-исследования фантомов – пластиковых флаконов, содержащих контраст-парамагнетик в концентрациях 0,5–16 мМ, в T1-взвешенном режиме при времени эхо (TE), зафиксированном на величине TE = 25 мс, при величинах времени повторения (TR) 250, 500, 750, 1000, 1500 и 2000 мс. Толщина срезов МРТ при этом составляла 10 мм при межсрезовом расстоянии 2 мм. На срезах в средней части фантомов выделялись зоны размером более 50 вокселей, и количественно определялась интенсивность T1-взвешенного изображения в них в аппаратных единицах. Строилась зависимость интенсивности T1-взвешенного изображения от TR для каждого флакона, которая затем аппроксимировалась по методу наименьших квадратов к следующему уравнению:

$$I_{T1-SE} = A \cdot [1 - e^{(-TR/T1)}],$$

где  $I_{T1-SE}$  – интенсивность T1-взв. изображения, A – интенсивность T1-взв. изображения при TR = T1, TR – время повторения. Как было доказано ранее Н. Pettersson и соавт. [10], применение такого

уравнения для аппроксимации зависимости  $I_{T1-SE}$  от TR не дает ошибки более 2–4%, что вполне удовлетворительно для фантомной оценки показателя релаксивности. В результате были получены величины T1 для каждого из фантомов, содержащих контраст-парамагнетик в концентрациях 0,5–16 мМ. По этим величинам строился график зависимости

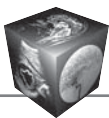
$$1/T1 = 1/T1_{Mn-DMCA} - R1 \cdot [Mn-DMCA],$$

где R1 как раз и представляет собой искомую величину релаксивности контрастного препарата-парамагнетика.

Исследование визуализационных свойств 0,5 М водного раствора комплекса Mn с ДМСА (рН= 6,5–7,2, при этом избыток ДМСА составлял 0,5–0,9%) при МРТ было выполнено у животных – ветеринарных пациентов с аденофибромами и ангиофибромами различных локализаций. Все исследования проводились с получением информированного согласия владельцев домашних животных в плане подготовки к их хирургическому лечению (удаление опухолей) и были одобрены предварительно этическим комитетом НИИ кардиологии Томского научного центра. Препарат Mn-ДМСА вводился внутривенно медленно спящим для обеспечения неподвижности под поверхностной медикаментозной анестезией (*Телазол*) животным (9 кошек с массой тела 3,4–5,2 кг, все – ветеринарные пациенты с предварительно клинически заподозренными опухолями диафрагмы таза – 2 животных, конечностей – 3 животных, внечерепными опухолями головы – 4 животных) из расчета 0,2 мл 0,5 М раствора на 1 кг массы тела. Все манипуляции осуществлялись высококвалифицированным хирургом-ветеринаром (А.И.Б., клинический хирургический ветеринарный опыт более 15 лет). Контрольной группой послужили 7 животных с первоначально заподозренными опухолевыми поражениями, у которых однако затем их выявлено не было, и без значимой соматической или неврологической патологии.

МРТ в T1-взв. спин-эхо режиме проводилась при TR = 500 мс, TE = 15 мс в сагиттальных, аксиальных и фронтальных плоскостях срезами по 2–2,5 мм в матрицу 256 × 256 при размере поля зрения 200 × 200 мм до и спустя 10–15 мин после введения парамагнетика. Исследования были проведены с помощью МР-томографов Magnetom Open (напряженность магнитного поля 0,2 Тл, производства Siemens Medical) и Toshiba Titan Vantage (напряженность магнитного поля 1,5 Тл, производства Toshiba Medical, в настоящее время Canon Medical).

Поглощение Mn-ДМСА нормальными и патологическими структурами при МРТ оценивалось



качественно зрительно как изменение в интенсивности T1-взв. спин-эхо изображений МРТ и количественно с расчетом индекса усиления (ИУ) T1-взв. МРТ как отношение средних интенсивностей на элемент изображения:

$$\text{ИУ} = \frac{(\text{Инт. T1-взв. МРТ})_{\text{Mn-DMSA}}}{(\text{Инт. T1-взв. МРТ})_{\text{исходн.}}}$$

Оценка статистической значимости результатов, их графическая визуализация проводилась с использованием пакета прикладных программ Origin 6.1 (OriginLab, Техас) с использованием критерия Стьюдента для непарных выборок.

## Результаты

В результате квантово-химического моделирования оказалось, что наиболее стабильными структурами комплексных соединений при реакции в водной среде оксида марганца с димеркаптоянтарной кислотой оказываются представленные ниже DMSA-S-S-MnOH и DMSA-S-Mn-S-DMSA. В частности, DMSA-S-Mn-S-DMSA представляет собой, как показано на рис. 1.

Оказалось, что, во-первых, комплекс Mn(II) с двумя сульфидными связями DMSA-S-S-MnOH существенно более стабильный, чем комплексы со связями O-Mn-O и S-Mn-O, что в общем ожидаемо; и, во-вторых, еще более термодинамически выгодно замещение OH-группы при Mn в DMSA-S-S-MnOH на вторую молекулу DMSA. Этот результат показался нам многообещающим, поскольку используемый в радионуклидной диагностике комплекс  $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}\text{-DMSA}$  имеет практически такую же структуру – см. сравнение Mn-(ДМСА)<sub>2</sub>, как пока-

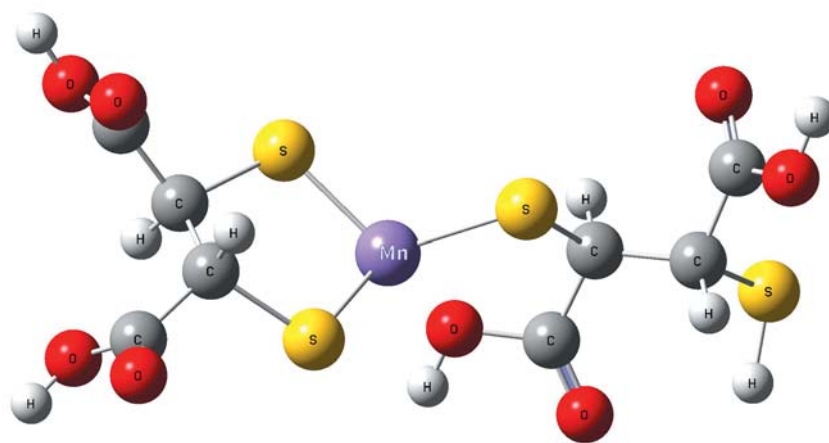
зано на рис. 1 – с пространственной структурой  $^{99\text{m}}\text{Tc(V)}\text{-(ДМСА)}_2$  (рис. 2), как было рассчитано и представлено ранее D. Hernandez-Valdes и соавт. [11].

Релаксивность комплекса Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> в водном растворе оказалась в нашем случае 3,2 1/(мм·с), что соответствовало ранее полученным результатам [4].

При исследовании визуализационных возможностей комплекса Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> оказалось, что у животных без соматической патологии накопление препарата происходит преимущественно в паренхиме почек, как можно видеть на примере такой визуализации у контрольной кошки, у которой опухолевых поражений выявлено не было (рис. 3).

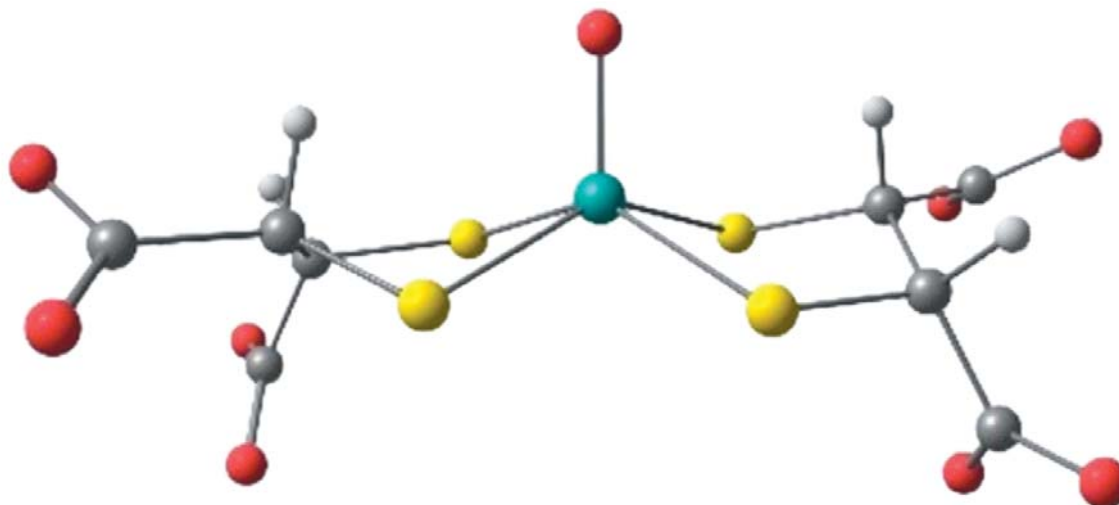
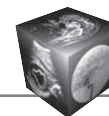
При опухолевых поражениях во всех случаях отмечалась картина достоверного накопления контраста-парамагнетика в толще опухолевой ткани (рис. 4, 5), более выраженного в периферических отделах, где васкуляризация существенно больше, чем в центре, с его явлениями опухолевого некроза. На рис. 5 представлена как раз картина такого случая. При этом накопление в богато васкуляризированной периферической зоне было выше, чем в гиповаскулярной центральной зоне (рис. 6).

При количественной оценке (см. таблицу) эти визуальные особенности находили полное подтверждение. В частности, показатели усиления интенсивности T1-взв. спин-эхо изображения не различались для нормальных органов между здоровыми контрольными и больными животными и были высокодостоверно больше для опухолей (в группе животных с опухолями).



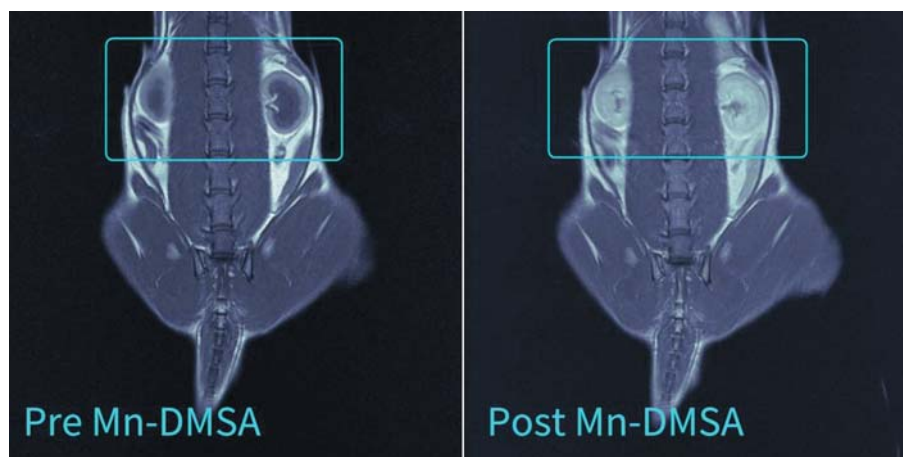
**Рис. 1.** Молекулярная структура термодинамически устойчивого комплекса Mn(II) с димеркаптоянтарной кислотой (ДМСА), формирующейся в условиях избытка димеркаптосукцината, как Mn-(ДМСА)<sub>2</sub>, по результатам квантово-химического моделирования.

**Fig. 1.** Molecular structure of thermodynamically stable complex Manganese (II) with the dimercaptosuccinic acid (DMSA), getting in the conditions of excess of DMSA the Mn-(DMSA)<sub>2</sub> complex, as from the digital quantum chemistry simulation.



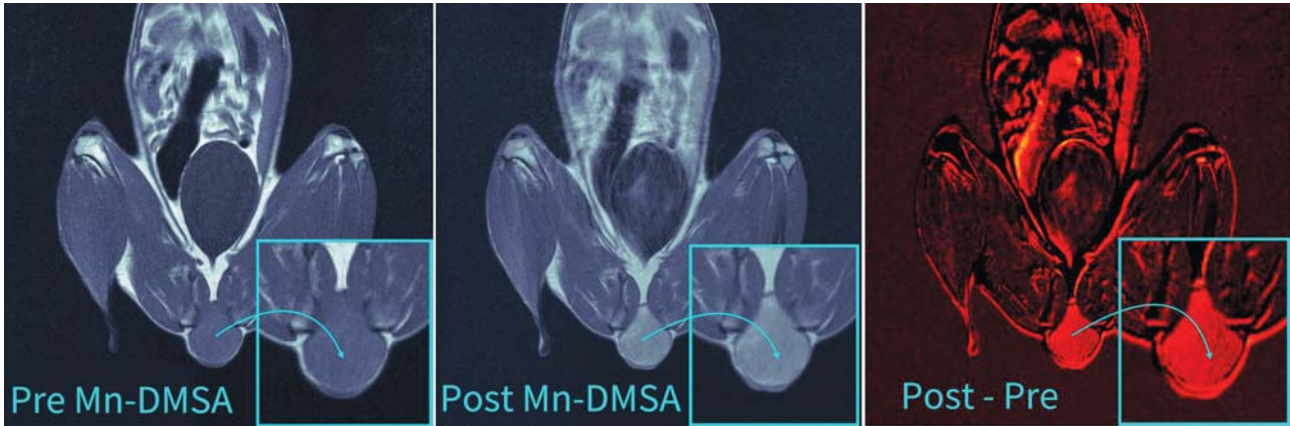
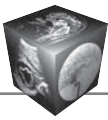
**Рис. 2.** Молекулярная структура комплекса  $^{99m}\text{Tc}(\text{V})-(\text{DMSA})_2$ , рассчитанная D. Hernandez-Valdes и соавт. [11]. Очевидно пространственное сходство структуры комплекса Технеция-99m с комплексом марганца – см. рис. 1.

**Fig. 2.** Molecular structure of the complex  $^{99m}\text{Tc}(\text{V})-(\text{DMSA})_2$ , calculated by D. Hernandez-Valdes et al. [11] Obvious is the stereometric similarity of the  $^{99m}\text{Tc}$ -bounding molecule shown here, with the Mn-bounding complex  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$  in the fig. 1.



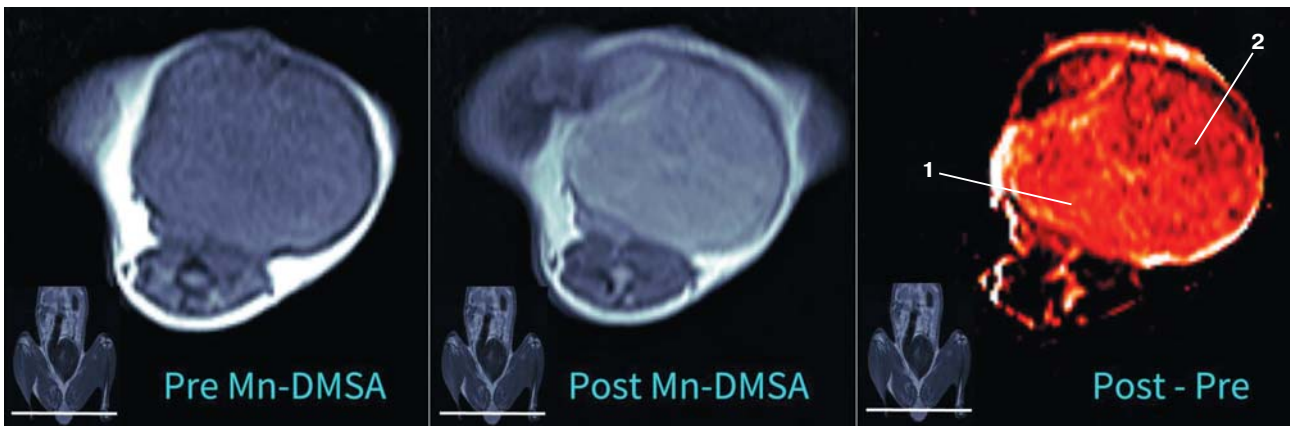
**Рис. 3.** Картина нормального накопления  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$  в паренхиме почек животного (кошка) контрольной группы. Представлены T1-взв. спин-эхо фронтальные МРТ-сканы тела животного на уровне середины тела почки – тел позвонков грудного и поясничного отделов. Справа – исходная картина, слева – МРТ-скан спустя 20 мин после введения  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$  (как 1 мл 0,5 М раствора на 5 кг массы тела животного). Выделен фрагмент, визуализирующий интенсивное накопление парамагнетика в почечной паренхиме. Также обращает на себя внимание умеренно-интенсивное усиление тел позвонков при парамагнитном контрастировании.

**Fig. 3.** Picture of normal uptake of the  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$  to the renal parenchyma of a cat from the control normal group. Here are presented the T1-w spin-echo frontal scans of the body at the level of mid of the kidney – mid of the vertebrae of thoral and lumbar spine and tail. The right scan depicts the pre-injection picture, whereas the left one presents the picture obtained in 20 min after the intravenous injection of  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$  (as 1 ml of 0,5M solution per 5 Kg of body weight). Highlighted is the part of picture showing the intense uptake of paramagnetic to renal parenchyma. Also remarkable is the mild intensive enhancement of the vertebrae in contrast-enhanced scan.



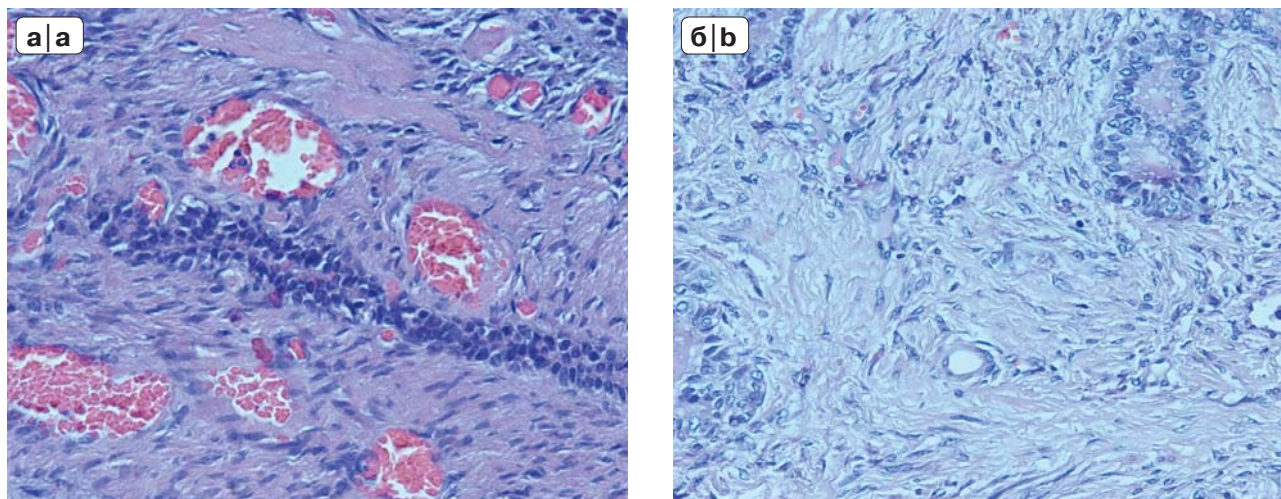
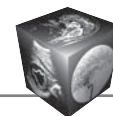
**Рис. 4.** Картина опухолевого накопления комплекса  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$  по данным T1-взв. спин-эхо МРТ-сканов тела животного во фронтальной плоскости на уровне середины опухоли тазового дна; представлены сканы до и спустя 20 мин после введения  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$ , а также вычитательный – разностный скан, полученный как вычитание изображений {(скан после  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$ ) – (скан до  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$ )}. Область собственно опухолевого накопления представлена в увеличенном виде на каждом скане в левом нижнем углу, визуализируемая фиброаденома отмечена стрелкой.

**Fig. 4.** Picture of the tumor uptake of the complex  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$ , as from T1-w spin-echo MRI scanning of a cat with fibroadenoma of the pelvic diaphragm. There are presented here scans before, in 20 min after injection of  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$ , and also subtraction scan, obtained as difference of images {(Scan after  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$ ) – (Scan before  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$ )}. The region of the tumor itself is also presented in magnified view on every scan, in the lower left corner, the fibroadenoma is marked with the arrow.



**Рис. 5.** T1-взв. спин-эхо аксиальный МРТ-скан опухолевого накопления комплекса  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$  на уровне максимального поперечника аденофиброзной опухоли тазового дна кошки. Уровень томосреза относительно фронтального МРТ-изображения тела животного представлен в правом нижнем углу. Сканы получены до (обозначен как Pre Mn-DMSA) и через 20 мин после (обозначен как Post Mn-DMSA) введения  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$  (как 1 мл 0,5 М раствора  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$  на 5 кг массы тела животного); крайний слева – разностный скан, полученный как вычитание изображений, полученных после и до введения  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$  (в цветовой кодировке). На разностном скане указателями обозначены участки, из которых затем после удаления опухоли забирался материал для морфологического исследования периферических (1) и центральных (2) участков новообразования – представлен далее на рис. 6.

**Fig. 5.** T1-w spin-echo axial MRI scan of the tumor uptake of the complex  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$ , at the level of maximum transversal dimension of an adenofibrous tumor of the pelvic diaphragm of a cat. The anatomic level of the axial slice regarding frontal MRI of the body of animal is shown in the lower right corner. The scans are obtained before (shown as Pre Mn-DMSA) and in 20 min after (shown as Post Mn-DMSA) the injection of  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$ , injected as 1 ml of 0,5 M solution of  $\text{Mn}-(\text{DMSA})_2$  per 5 Kg of body weight. The very left scan is the row is the subtraction one, showing the pure uptake of the paramagnetic only. On the subtraction scan the regions are marked with the arrows, from which the specimen were taken after the surgical removal of the tumor, in particular from peripheral – (1), and central – (2) parts of the tumor.



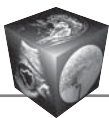
**Рис. 6.** Микропрепараты ткани опухоли, приготовленные после радикального хирургического удаления опухоли (рис. 5) из фрагментов: а – периферического участка (соответствует участку, указанному (1) на рис. 5) и б – центрального (соответствует участку, указанному (2) на рис. 5). Окраска гематоксилин-эозином, толщина среза 4,5 мкм. Хорошо видны множественные микрососуды опухоли в периферической зоне (а) и их практическое отсутствие в центральной части опухоли (б).

**Fig. 6.** Microphotographs of the tumor specimens taken after the radical surgical removal of the tumor shown on figure 5, from the fragments: a – peripheral part corresponding to the region shown with the (1) on the figure 5, and b – central region corresponding to the region shown with the (2) on the figure 6. Haemtoxylin-eosin staining, the slice is as thin as 4.5 mkm. Multiple micro-vessels with red blood cells in the lumen are well seen in the peripheral zone of the tumor (a) and almost no any vasculature is seen in the central part of the tumor (b).

**Таблица.** Показатель индекса усиления МР-томографических Т1-взв. спин-эхо изображений опухолевых структур и нормальных органов и тканей у животных с опухолями при контрастировании парамагнитным комплексом Mn-(ДМСА)<sub>2</sub>. Достоверность различия р – по сравнению групп животных с опухолями и контрольной, при этом “опухолевые” значения сравнивались с областью мышц на этом же уровне у здоровых контрольных животных

**Table.** Index of enhancement of T1-weighted spin-echo MRI images of tumor tissue and of normal organs and tissues in animals with tumors, when enhanced with paramagnetic cointrast agent Mn-(DMSA)<sub>2</sub>. Value of significance of difference p – when comparing tumor-bearing and control normal groups of animals, in the case of tumor itself, it’s values were compared with the values obtained from region of muscles on the same anatomic level in the control animals

Исследуемая область/орган	Индекс усиления Т1-взв. МРТ как среднее ± ошибка среднего	
	животные с опухолями (n = 9)	контрольные животные без опухолевых поражений (n = 7)
Мышцы задних конечностей	1,060 ± 0,02 (p > 0,05)	1,05 ± 0,03
Периферические отделы опухоли	<b>1,87 ± 0,09</b> <b>(p &lt; 0,01)</b>	–
Центральные отделы опухоли	<b>1,59 ± 0,07</b> <b>(p &lt; 0,01)</b>	–
Почки (кортикальный слой)	2,51 ± 0,12 (p > 0,05)	2,55 ± 0,14
Паренхима печени	1,17 ± 0,08 (p > 0,05)	1,21 ± 0,09
Паренхима селезенки	1,51 ± 0,11 (p > 0,05)	1,55 ± 0,10
Тела позвонков D <sub>XI</sub> –L <sub>III</sub>	1,18 ± 0,08 (p > 0,05)	1,16 ± 0,09



## Обсуждение

Релаксивность R1 исследованного соединения Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> оказалась достаточной для МР-визуализации картины распределения парамагнетика в опухолях у животных. Хотя и не превосходя величин R1-релаксивности для комплексов Gd, которые обычно составляют около 4 1/(мм·с) и более [1, 12], ее величина оказалась вполне достаточной для достоверного контрастного усиления опухолевых структур – см. рис. 4, 5. Ранее в ряде исследований было показано, что соединения марганца, хотя и уступая достоверно комплексам Gd(III) по такой характеристике, как R1, тем не менее обеспечивают достаточно интенсивное усиление в T1-взвешенных режимах при любых напряженностях магнитного поля – от 0,2 до 1,5 Тл [13–15].

Побочных эффектов от применения парамагнетика Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> в обычных и для других контрастных веществ дозировках 0,1 мМ на 1 кг массы тела мы не наблюдали. Малое пока еще количество синтезированного *de novo* парамагнетика в этом пилотном эксперименте не позволяло нам пока детально определить все необходимые токсикологические показатели, однако при указанных выше диагностических дозах мы никаких изменений в картине крови и физикальных показателях не наблюдали. Это дает надежду рассчитывать на безопасность применения парамагнетика в дальнейшем и одновременно указывает на необходимость полного токсикологического исследования Mn-(ДМСА)<sub>2</sub>.

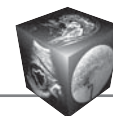
В то же время визуализационные свойства Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> у ветеринарных пациентов оказались вполне приемлемыми для контрастного усиления опухолей у животных и во всех случаях позволили спланировать и осуществить затем радикальное удаление опухоли. В нашем исследовании контингент составили животные с аденофиброзами, опухолями, которые обычно усиливаются при парамагнитном контрастировании комплексами Gd с ДТПА и его аналогами в небольшой степени [16]. Вероятно, это связано с различием механизмов поглощения препаратов. Основным механизмом тканевой задержки в опухолях таких соединений, как меченный радионуклидом <sup>99m</sup>Tc димеркаптосукцинат, как было показано [17, 18], является не столько повышенная проницаемость гистогематического барьера, а и наличие в опухолевой ткани большого количества свободных (-SH)-групп, которые позволяют высвободить из молекул типа <sup>99m</sup>Tc(V) – (ДМСА)<sub>2</sub> одну из молекул ДМСА, прочно связав при этом другую вместе с гамма-эмиттером или парамагнетиком. Рационально полагать, что этот механизм может быть частично справед-

лив и для Mn-(ДМСА)<sub>2</sub>. Поскольку клеточные элементы и интерстиций как в поверхностных, так и в глубоких отделах аденофибром как раз соответствуют такому критерию, возможна интенсивная задержка ими Mn-(ДМСА)<sub>2</sub>. Однако нормальная почечная ткань также богата снабжена глутатионзависимыми биохимическими механизмами, за счет чего наше соединение интенсивно контрастирует почки и в норме (см. рис. 3). Это позволяет говорить об опухолетропности Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> лишь достаточно ограниченно и требует дальнейшей экспериментально-практической детализации. Однако существенно, что такой механизм – активность глутатионтрансфераз и наличие свободных SH-групп, представляет собой иной патофизиологический процесс, нежели повышенная проницаемость эндотелиального барьера, основной фактор, определяющий поглощение таких соединений, как производные ДТПА, меченные Gd.

Такая биохимическая особенность позволяет надеяться в будущем на применение Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> также и при диагностике опухолей мозга, поскольку в них также обильно содержание на поверхности клеток групп SH [18]. Кроме того, исходя из сделанного предположения о патофизиологических механизмах связывания в тканях, тогда возможно рассчитывать на появление в качестве другого контраста-парамагнетика комплекса Mn с гексаметил-пропилен-аминоксимом (Mn-ГМПАО), поскольку этот комплексообразователь также накапливается по глутатионзависимому SH-механизму.

Ограничения данного исследования были следствием пока что малых количеств синтезированного контраста-парамагнетика Mn-(ДМСА)<sub>2</sub>, так как здесь мы попытались на самом первом этапе оценить лишь саму возможность парамагнитного контрастного усиления опухолей с его помощью. Как представляется, полученные изображения и количественные результаты позволяют говорить о такой возможности утвердительно. Учитывая, что марганец, хотя и токсичный в высоких дозах в виде неорганических солей, тем не менее представлен в организме как микроэлемент [19], а ДМСА (товарное название *Сукцимер*) – представляет собой высокоэффективный детоксикант при отравлениях солями металлов [2], благоприятный результат токсикологических исследований вероятен. Если физико-химические, биофизические и биолого-токсикологические свойства Mn-(ДМСА)<sub>2</sub> на практике подтвердят его безопасность, возможно появление в клинических и экспериментальных МРТ-исследованиях лекарственной формы Mn-(ДМСА)<sub>2</sub>, а в последующем и всего семейства контрастов-парамагнетиков –





комплексов марганца (кроме ДМСА – также с ГМПАО и другими комплексонами, используемыми сегодня для  $^{99m}\text{Tc}$ ).

## Заключение

Обоснованно полагать, что визуализационные свойства  $\text{Mn}-(\text{ДМСА})_2$  являются аргументом в пользу возможности создания на основе комплексов марганца парамагнитных контрастных препаратов, повышенно тропных к определенным органам и патологическим процессам, в первую очередь – к новообразованиям. Необходимо и целесообразно дальнейшее исследование  $\text{Mn}-(\text{ДМСА})_2$  для создания парамагнитного контрастного препарата.

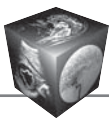
## Список литературы

1. Шимановский Н.Л. 20 лет клинического применения магнитно-резонансных контрастных средств. *Диагностическая и интервенционная радиология*. 2009; 3 (1): 5–15.
2. Blower P.J., Lam A.S., O'Doherty M.J., Kettle A.G., Coakley A.J., Knapp F.F. Jr. Pentavalent rhenium-188 dimercaptosuccinic acid for targeted radiotherapy: synthesis and preliminary animal and human studies. *Eur. J. Nucl. Med.* 1998; 25 (6): 613–621.
3. Усов В.Ю., Белянин М.Л., Кодина Г.Е., Афанасьев С.А., Безлепкин А.И., Гуляев В.М., Шимановский Н.Л. МР-томография миокарда с парамагнитным контрастным усилением  $\text{Mn}$ -метоксиизобутилизонитрилом ( $\text{Mn-MIBI}$ ) в эксперименте. *Медицинская визуализация*. 2016; 1: 31–38.
4. Ussov W.Yu., Belyanin M.L., Kovalenko A.Yu., Bezlepkin A.I., Filimonov V.D., Shimanovsky N.L. Evaluation of manganese dimercaptosuccinate ( $\text{Mn-DMSA}$ ) complex as contrast agent for paramagnetic enhancement in MRI studies of malignant fibroepithelial tumors in animals. *Russian Electronic Journal of Radiology (REJR)*. 2017; 7 (4): 108–116
5. К 70-летию со дня рождения И.Я. Постовского. *Химия гетероциклических соединений*. 1968; (1): 186–188.
6. van Eijkeren J.C., Olie J.D., Bradberry S.M., Vale J.A., de Vries I., Clewell H.J. 3rd, Meulenbelt J., Hunault C.C. Modeling the effect of succimer (DMSA; dimercaptosuccinic acid) chelation therapy in patients poisoned by lead. *Clin. Toxicol. (Philad.)*. 2017; 55 (2): 133–141. <http://doi.org/10.1080/15563650.2016.1263855>.
7. Бусев А.И. Синтез новых органических реагентов для неорганического анализа. М.: Изд-во МГУ, 1972: 116–118.
8. Зевацкий Ю.Э., Самойлов Д.В. Эмпирический метод учета влияния растворителя на константы диссоциации карбоновых кислот. *Журнал органической химии*. 2008; 44 (1): 59–68.
9. Kaviani S., Shahab S., Sheikhi M., Ahmadianarog M. DFT study on the selective complexation of meso-2,3-dimercaptosuccinic acid with toxic metal ions ( $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$ ) for pharmaceutical and biological applications. *J. Molec. Struct.* 2019; 1176: 901–907.
10. Pettersson H., Slone R.M., Spanier S., Gillespie Th., Fitzsimmons J.R., Scott K.N. Musculoskeletal Tumors:

- T1 and T2 relaxation Times. *Radiology*. 1988; 167: 783–785.
11. Hernandez-Valdes D., Blanco-Gonzalez A., Rodriguez-Riera Z., Haza J., Ducat-Pages L., Pizarro-Lou L. Theoretical study of Re and Tc-DMSA complexes. *Nucl. Med. Biol.* 2014. <http://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2014.05.011>.
12. The Chemistry of Contrast Agents in Medical Resonance Imaging. 2nd ed; eds by L. Helm, A.E. Mehrbach, E Troth. J. Wiley, 2013. 496 p.
13. Белянин М.Л., Првулович М., Карпова Г.В., Безлепкин А.И., Федоренко Е.В., Чуринов А.А., Филимонов В.Д., Усов В.Ю. Синтез и оценка мангапететата как парамагнитного контрастного препарата для МР-томографии. *Диагностическая и интервенционная радиология*. 2008; 2 (1): 75–86.
14. Zhen Ye, Eun-Kee Jeong, Xueming Wu, Mingqian Tan, Shouyu Yin, Zheng-Rong Lu. Polydisulfide Manganese(II) Complexes as Non-Gadolinium Biodegradable Macromolecular MRI Contrast Agents. *J. Magn. Reson. Imaging*. 2012; 35 (3): 737–744. <http://doi.org/10.1002/jmri.22848>.
15. Бурилова Е.А., Зиятдинова А.Б., Зявкина Ю.И., Амиров Р.Р. Влияние водорастворимых полимеров на образование комплексов марганца(II) в растворах. II. Комплексы с ДТПА. *Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки*. 2013; 155 (2): 26–38.
16. Montoriol P.F., Mons A., Da Ines D., Bourdel N., Tixier L., Garcier J.M. Fibrous tumours of the ovary: aetiologies and MRI features. *Clin. Radiol.* 2013; 68 (12): 1276–1283. <http://doi.org/10.1016/j.crad.2013.07.005>.
17. Djokić D., Janković D., Nikolić N. Preparation and in vivo evaluation of 90Y-meso-dimercaptosuccinic acid (90Y-DMSA) for possible therapeutic use: comparison with  $^{99m}\text{Tc-DMSA}$ . *Cancer Biother. Radiopharm.* 2009; 24 (1): 129–136. <http://doi.org/10.1089/cbr.2008.0499>.
18. Hirano T., Otake H., Kazama K., Wakabayashi K., Zama A., Shibasaki T., Tamura M., Endo K. Technetium-99m(V)-DMSA and thallium-201 in brain tumor imaging: correlation with histology and malignant grade. *J. Nucl. Med.* 1997; 38 (11): 1741–1749.
19. Skalny A.V. Bioelementology as an interdisciplinary integrative approach in life sciences: Terminology, classification, perspectives. *J. Trace Elements Med. Biol.* 2011; 25: 3–10.

## References

1. Shimanovsky N.L. 20 years of clinical application of magnetic resonance contrast agents. *Diagnostic and intervention radiology*. 2009; 3 (1): 5–15. (In Russian)
2. Blower P.J., Lam A.S., O'Doherty M.J., Kettle A.G., Coakley A.J., Knapp F.F. Jr. Pentavalent rhenium-188 dimercaptosuccinic acid for targeted radiotherapy: synthesis and preliminary animal and human studies. *Eur. J. Nucl. Med.* 1998; 25 (6): 613–621.
3. Ussov W.Yu., Belyanin M.L., Kodina G.E., Afanasyev S.A., Bezlepkin A.I., Gulyaev V.M., Shimanovsky N.L. Myocardial MRI Using Paramagnetic Contrast Enhancement With Manganese-Metoxisobutylisonitryle ( $\text{Mn-MIBI}$ ) in Animals. *Medical Visualization*. 2016; 1: 31–38. (In Russian)
4. Ussov W.Yu., Belyanin M.L., Kovalenko A.Yu., Bezlepkin A.I., Filimonov V.D., Shimanovsky N.L. Evaluation of manganese dimercaptosuccinate ( $\text{Mn-DMSA}$ ) complex



- as contrast agent for paramagnetic enhancement in MRI studies of malignant fibroepithelial tumors in animals. *Russian Electronic Journal of Radiology (REJR)*. 2017; 7 (4): 108–116
5. On 70-th Anniversary of the Professor I.Ya. Postovsky. *Chemistry of heterocyclic compounds*. 1968; (1): 186–188. (In Russian)
  6. van Eijkeren J.C., Olie J.D., Bradberry S.M., Vale J.A., de Vries I., Clewell H.J. 3rd, Meulenbelt J., Hunault C.C. Modeling the effect of succimer (DMSA; dimer-captosuccinic acid) chelation therapy in patients poisoned by lead. *Clin. Toxicol. (Philad.)*. 2017; 55 (2): 133–141. <http://doi.org/10.1080/15563650.2016.1263855>.
  7. Busev A.I. Synthesis of new organic reagents for non-organic analysis. M.: MSU Publ., 1972: 116–118. (In Russian)
  8. Zevatskiy Yu.E., Samoilov D.V. Empiric method of quantification of influence of dissolver on dissociation constants of carbonic acids. *Zhurnal organicheskoi khimii*. 2008; 44 (1): 59–68. (In Russian)
  9. Kaviani S., Shahab S., Sheikhi M., Ahmadianarog M. DFT study on the selective complexation of meso-2,3-dimercaptosuccinic acid with toxic metal ions (Cd<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup>) for pharmaceutical and biological applications. *J. Molec. Struct.* 2019; 1176: 901–907.
  10. Pettersson H., Slone R.M., Spanier S., Gillespie Th., Fitzsimmons J.R., Scott K.N. Musculoskeletal Tumors: T1 and T2 relaxation Times. *Radiology*. 1988; 167: 783–785.
  11. Hernandez-Valdes D., Blanco-Gonzalez A., Rodriguez-Riera Z., Haza J., Ducat-Pages L., Pizarro-Lou L. Theoretical study of Re and Tc-DMSA complexes. *Nucl. Med. Biol.* 2014. <http://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2014.05.011>.
  12. The Chemistry of Contrast Agents in Medical Resonance Imaging. 2nd ed; eds by L. Helm, A.E. Mehrbach, E Troth. J. Wiley, 2013. 496 p.
  13. Belyanin M.L., Prvulovich M., Karpova G.V., Bezlepkin A.I., Fedorenko E.V., Churin A.A., Filimonov V.D., Ussov W.Yu. Synthesis and evaluation of mangapentetate as paramagnetic contrast agent for MRI. *Diagnostic and Interventional radiology. (Moscow)*. 2008; 2 (1): 75–86. (In Russian)
  14. Zhen Ye, Eun-Kee Jeong, Xueming Wu, Mingqian Tan, Shouyu Yin, Zheng-Rong Lu. Polydisulfide Manganese(II) Complexes as Non-Gadolinium Biodegradable Macromolecular MRI Contrast Agents. *J. Magn. Reson. Imaging*. 2012; 35 (3): 737–744. <http://doi.org/10.1002/jmri.22848>.
  15. Burilova E.A., Ziyatdinova A.B., Ziyavkina Yu.I., Amirov R.R. Influence of water-soluble polymers on the formation of Manganese(II) complexonates in solution. II/ Complexes with DTPA. *Scientific Proceedings of Kazan University. Natural Sciences*. 2013; 155 (2): 26–38. (In Russian)
  16. Montoriol P.F., Mons A., Da Ines D., Bourdel N., Tixier L., Garcier J.M. Fibrous tumours of the ovary: aetiologies and MRI features. *Clin. Radiol.* 2013; 68 (12): 1276–1283. <http://doi.org/10.1016/j.crad.2013.07.005>.
  17. Djokić D., Janković D., Nikolić N. Preparation and in vivo evaluation of 90Y-meso-dimercaptosuccinic acid (90Y-DMSA) for possible therapeutic use: comparison with 99mTc-DMSA. *Cancer Biother. Radiopharm.* 2009; 24 (1): 129–136. <http://doi.org/10.1089/cbr.2008.0499>.
  18. Hirano T., Otake H., Kazama K., Wakabayashi K., Zama A., Shibasaki T., Tamura M., Endo K. Technetium-99m(V)-DMSA and thallium-201 in brain tumor imaging: correlation with histology and malignant grade. *J. Nucl. Med.* 1997; 38 (11): 1741–1749.
  19. Skalny A.V. Bioelementology as an interdisciplinary integrative approach in life sciences: Terminology, classification, perspectives. *J. Trace Elements Med. Biol.* 2011; 25: 3–10.

**Для корреспонденции\*:** Усов Владимир Юрьевич – 634012 Томск, Россия, ул. Киевская, 111. НИИ кардиологии ТНИМЦ РАН. Тел.: 8-903-951-26-76. E-mail: ussov1962@yandex.ru

**Усов Владимир Юрьевич** – доктор мед. наук, профессор, заведующий отделением рентгеновских и томографических методов диагностики НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН, Томск. E-mail: ussov1962@yandex.ru

**Филимонов Виктор Дмитриевич** – профессор, доктор хим. наук, профессор кафедры органической химии и биотехнологий Национального исследовательского Томского политехнического университета, Томск. E-mail: filimonov@tpu.ru

**Белянин Максим Львович** – канд. хим. наук, доцент, доцент кафедры органической химии и биотехнологий Национального исследовательского Томского политехнического университета, Томск. E-mail: m\_belyanin@mail.ru

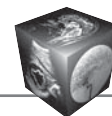
**Безлепкин Александр Иванович** – директор ООО Ветеринарная клиника “Айболит”, Томск. E-mail: A\_I\_Bezlepkin@yandex.ru

**Лучич Милош** – профессор, доктор мед. наук, врач отделения МРТ, Центар за Импиджинг Диагностику, Институт у Сремской Каменици, Нови Сад, Сербия. E-mail: milos.a.lucic@gmail.com

**Коваленко Анастасия Юрьевна** – аспирант отделения рентгеновских и томографических методов диагностики НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН, Томск. E-mail: nastenka13.06@mail.ru

**Роговская Юлия Викторовна** – канд. мед. наук, заведующая отделением патоморфологии НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН, Томск. E-mail: rogovskaya@cardio-tomsk.ru

**Шимановский Николай Львович** – член-корр. РАН, доктор мед. наук, профессор, заведующий кафедрой молекулярной фармакологии имени академика П.В. Сергеева Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, Москва. E-mail: shimannn@yandex.ru



**Contact\*:** Wladimir Yu. Ussov – Kievskaya 111, 634012 Tomsk, Russia. Institute of Cardiology of the Tomsk National medical research Center of the Russian Academy of Sciences. Phone: +7-903-951-26-76. E-mail: ussov1962@yandex.ru

**Wladimir Yu. Ussov** – Doct. of med. sci., Professor, Head of X-ray and Tomographic Methods of Diagnosis, Research Institute of Cardiology of the Tomsk National medical Research Center, Tomsk. E-mail: ussov1962@yandex.ru

**Viktor D. Filimonov** – Doct. of chem. sci., Professor of the Department of Organic Chemistry and Biologically Active Substances, National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk. E-mail: filimonov@tpu.ru

**Maxim L. Belyanin** – Cand. of chem. sci., Assistant Professor of Organic Chemistry and Biologically Active Substances Department, National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk. E-mail: m\_belyanin@mail.ru

**Alexander I. Bezlepkin** – Director of the Vetrinary research Clinic “Aibolit”, Tomsk. E-mail: A\_I\_Bezlepkin@yandex.ru

**Milos A. Lucic** – Doctor of Medicine, Professor, Center of Imaging Diagnostic, Sremska Kamenica, Serbia. E-mail: milos.a.lucic@gmail.com

**Anastasiya Yu. Kovalenko** – Postgraduate medical student of X-ray and Tomographic Methods of Diagnosis, Research Institute of Cardiology of the Tomsk National medical Research Center, Tomsk. E-mail: nastenka13.06@mail.ru

**Yulia V. Rogovskaya** – Cand. of med. sci., Head of the Department of Pathomorphology, Research Institute of Cardiology of the Tomsk National medical Research Center of the RAS, Tomsk. E-mail: rogovskaya@cardio-tomsk.ru

**Nikolay L. Shimanovskiy** – Shimanovskiy Nikolay Lvovich, Corresponding Member of RAS, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Department of acadecician P.V. Segeev Molecular Pharmacology, and Radiobiology of N.I. Pirogov Russian National Reasearch Medical University, Moscow. E-mail: shimannn@yandex.ru

Поступила в редакцию 05.05.2019.

Received on 05.05.2019.

Принята к печати 14.08.2019.

Accepted for publication on 14.08.2019.