

УДК 615.849.1

## КОМПЛЕКСЫ ГАФНИЯ КАК ДОЗОПОВЫШАЮЩИЕ АГЕНТЫ ДЛЯ ФОТОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ И КОНТРАСТНЫЕ АГЕНТЫ ДЛЯ РАДИОЛОГИИ

© 2024 г. А.А. Липенгольц\*, \*\*, \*\*\*, В.А. Скрибицкий\*, \*\*, Ю.А. Финогенова\*, \*\*\*\*, #,  
А.Т. Шуляк\*\*\*, \*\*\*\*\*, М.А. Абакумов\*\*\*\*\*, А.Ю. Быков\*\*\*, Е.Ю. Григорьева\*,  
А.В. Смирнова\*, \*\*\*\*\*, К.Е. Шпакова\*, \*\*, К.Ю. Жижин\*\*\*, \*\*\*\*\*

\*Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина Минздрава России,  
Каширское шоссе, 24, Москва, 115478, Россия

\*\*Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Каширское шоссе, 31, Москва, 115409, Россия

\*\*\*Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН,  
Ленинский проспект, 31, Москва, 119991, Россия

\*\*\*\*Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы,  
ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, 117198, Россия

\*\*\*\*\*МИРЭА – Российский технологический университет, проспект Вернадского, 78, Москва, 119454, Россия

\*\*\*\*\*Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава  
России, ул. Островитянова, 1, Москва, 117997, Россия

\*\*\*\*\*Московский клинический научный центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города  
Москвы», Шоссе Энтузиастов, 86, Москва, 111123, Россия

#E-mail: b-f.finogenova@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.07.2023 г.

После доработки 26.09.2023 г.

Принята к публикации 04.10.2023 г.

Гафний – химический элемент, являющийся перспективной основой рентгеноконтрастных средств и дозоповышающих агентов для лучевой терапии. В настоящее время отсутствуют препараты гафния, обладающие способностью к почечной экскреции из организма и пригодные для использования в лучевой терапии. В данной работе методами неорганической химии были синтезированы два комплекса гафния: с нитрилотриуксусной кислотой (Hf-NTA) и с 1,2-диаминоциклогексан-тетрауксусной кислотой (Hf-CDTA). Исследования токсичности полученных комплексов изучали на мышах линии C57Bl/6. Средняя летальная доза ( $LD_{50}$ ) Hf-CDTA была оценена как  $408 \pm 64$  мг Hf/кг, а Hf-NTA – менее 120 мг Hf/кг. Исследования биораспределения и контрастных свойств Hf-CDTA проводили *in vivo* методом микрокомпьютерной томографии на мышах линии C57Bl/6 с трансплантированной подкожной аденокарциномой молочной железы Ca755. Микрокомпьютерная томография мышей после внутривенного введения Hf-CDTA подтвердила контрастирующую способность и почечную экскрецию комплекса. Микрокомпьютерная томография области опухоли после однократного внутриопухолевого введения Hf-CDTA показала высокую концентрацию гафния и достаточно длительное удержание в опухоли для использования в лучевой терапии. Hf-CDTA продемонстрировал приемлемую токсичность и биораспределение у мышей с подкожными опухолями для биомедицинского применения в радиологии и лучевой терапии. Однако для применения в клинической практике состав Hf-CDTA должен быть улучшен с целью повышения растворимости в воде и снижения токсичности. Hf-NTA оказался непригоден для радиологического применения в связи с высокой токсичностью.

**Ключевые слова:** гафний, комплексы, токсичность,  $LD_{50}$ , визуализация, компьютерная томография, контрастное средство, фотонозахватная терапия.

**DOI:** 10.31857/S0006302924010163, **EDN:** QVANXR

Лучевая терапия – один из трех основных методов лечения злокачественных новообразований наряду с химиотерапией и хирургическим ле-

чением. В лучевой терапии активно применяются новые высокотехнологичные методы, такие как VMAT (volumetric modulated arc therapy), стерео-

**Сокращения:** ФЗТ – фотонозахватная терапия, ДПА – дозоповышающий агент, ФПД – фактор повышения дозы, NTA – нитрилотриуксусная кислота, Hf-CDTA – 1,2-диаминоциклогексан-тетрауксусная кислота, КТ – компьютерная томография, ЯМР – ядерная магнитно-резонансная спектроскопия.

таксическая лучевая терапия, терапия протонами и ионами углерода. Применение подобных инновационных методов значительно повысило эффективность лечения злокачественных новообразований, однако онкологические заболевания по-прежнему остаются серьезной медико-социальной проблемой и одной из ведущих причин смерти в мире.

Основным недостатком большинства видов дистанционной лучевой терапии является невозможность доставить тумороцидную дозу облучения за однократное облучение и необходимость фракционированного режима облучения. Для некоторых видов радиорезистентных опухолей (например, глиом) в принципе невозможно доставить необходимую для излечения пациента величину поглощенной дозы без повреждения окружающих здоровых тканей. Также при дистанционной лучевой терапии неизбежно поражение здоровых тканей вблизи злокачественного новообразования, связанное с необходимостью облучения возможных недиагностируемых опухолевых микроочагов вокруг опухоли.

Вышеописанные сложности отсутствуют в бинарных технологиях лучевой терапии, к которым относятся нейтронозахватная и фотонозахватная терапия (ФЗТ). Принцип бинарной лучевой терапии заключается в том, что для доставки необходимой дозы в объем опухоли используются два компонента: внешний источник ионизирующего излучения и препарат, содержащий дозоповышающий агент (ДПА) — химический элемент или изотоп, эффективно поглощающий данный используемый вид внешнего излучения. При взаимодействии ДПА с внешним излучением происходит локальное энерговыделение в области локализации препарата с ДПА в виде вторичного излучения и формирование поглощенной дозы. Благодаря фармакологическим свойствам препарат преимущественно накапливается в опухоли, обеспечивая существенно большее значение поглощенной дозы в опухоли (в 2–5 раз), чем в нормальных тканях. Препарат с ДПА не обладает собственным противоопухолевым действием и не оказывает токсического действия на организм, лишь взаимодействие внешнего ионизирующего излучения с ДПА создает необходимую поглощенную дозу в опухоли и обеспечивает терапевтический эффект. При этом величина и пространственное распределение поглощенной дозы в теле пациента определяются главным образом распределением препарата, содержащего ДПА [1–3].

При нейтронозахватной терапии в качестве внешнего излучения используются тепловые или эпитепловые нейтроны, а в качестве ДПА — стабильный изотоп бор-10 или гадолиний-157 [4]. Для ФЗТ используется рентгеновское излучение

и тяжелые элементы с  $Z > 52$ . С 2020 г. в Японии бор-нейтронозахватная терапия применяется в клинической практике как метод лечения неоперабельных, запущенных и рецидивирующих злокачественных опухолей головы и шеи, а также головного мозга. ФЗТ находится на фазе I клинических испытаний [5–7]. Основным ограничением к успешному применению ФЗТ для лечения злокачественных опухолей является отсутствие разрешенных опухолеспецифичных фармакологических субстанций, содержащих тяжелые элементы. Обнадешивающие результаты были получены при ФЗТ опухолей головного мозга с наночастицами золота и йодными рентгеноконтрастными средствами [8–10], но необходима разработка новых более эффективных препаратов для доставки ДПА в опухоли различной нозологии и локализации.

Фактор повышения дозы (ФПД) является ключевым понятием для ФЗТ, определяющим ее эффективность. ФПД определяется как отношение поглощенных доз в опухоли в присутствии и отсутствии ДПА:

$$\text{ФПД}(E, C, \psi) = \frac{D_{\text{ДПА}}(E, C, \psi)}{D_0(E, C, \psi)}, \quad (1)$$

где  $D_{\text{ДПА}}$  — поглощенная доза в мишени, содержащей  $C$  ДПА мг/мл, облученной моноэнергетическим рентгеновским излучением с энергией  $E$  и флюенсом  $\psi$ ;  $D_0$  — поглощенная доза в такой же мишени, не содержащей ДПА, облученной тем же рентгеновским пучком.

На рис. 1 представлены графики зависимости ФПД от энергии рентгеновского излучения для золота, йода и гафния, рассчитанные по массовому коэффициенту поглощения энергии [11]. Как

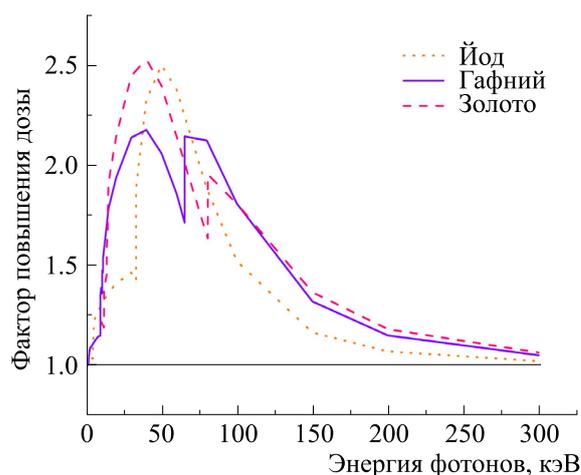
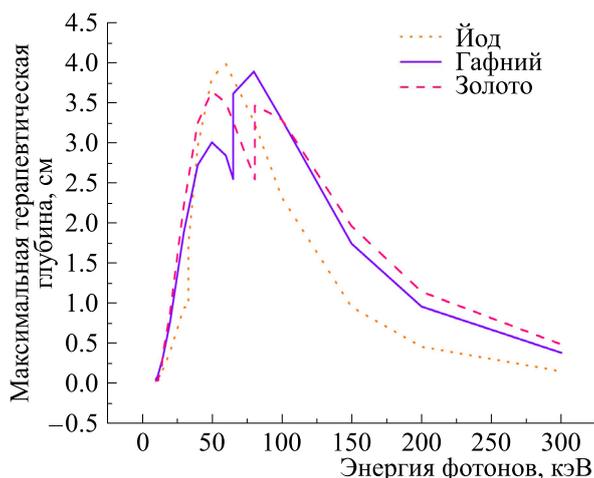


Рис. 1. Зависимость фактора повышения дозы от энергии рентгеновского излучения для йода (пунктирная линия), золота (штриховая линия), и гафния (сплошная линия).



**Рис. 2.** Максимальная глубина, на которой доза в присутствии ДПА становится равной дозе на поверхности, в зависимости от энергии внешнего рентгеновского излучения, для различных ДПА: йода (пунктирная линия), золота (штриховая линия) и гафния (сплошная линия).

видно на графике, максимальное увеличение поглощенной дозы для всех трех элементов находится в диапазоне энергии фотонов от 20 до 60 кэВ. Однако фотоны данного энергетического диапазона существенно ослабляются в теле человека, поэтому такие пучки непригодны для лечения глубоко расположенных опухолей.

С целью определения оптимального диапазона энергии рентгеновского излучения для ФЗТ была рассчитана максимальная глубина, на которой поглощенная доза в присутствии ДПА становится равной дозе на поверхности (рис. 2). Как видно на графике, при энергии от 40 до 100 кэВ можно достичь глубины 3 см. Но для реализации ФЗТ с многопольным облучением предпочтительна более высокая энергия излучения. В диапазоне от 65 до 100 кэВ гафний обеспечивает ФПД выше, чем золото, а для фотонов с энергией выше 100 кэВ ФПД гафния сравним с золотом. Таким образом, гафний является перспективным дозоповышающим агентом для ФЗТ.

Единственный препарат на основе гафния, предназначенный для комбинированной лучевой терапии и одобренный для клинического применения, — NBTXR3 [12]. Этот препарат представляет собой наночастицы оксида гафния. Но вопрос о безопасности применения наночастиц в клинической практике окончательно не решен, и исследования токсикологических свойств наночастиц все еще продолжаются. По-прежнему актуальна разработка новых низкомолекулярных комплексов гафния, экскретируемых почками, для проведения радиобиологических исследований ФЗТ и в качестве основы для создания лекарственных средств с перспективой трансляции в клиническую лучевую терапию. В данной работе были синтезированы комплексы гафния с нитри-

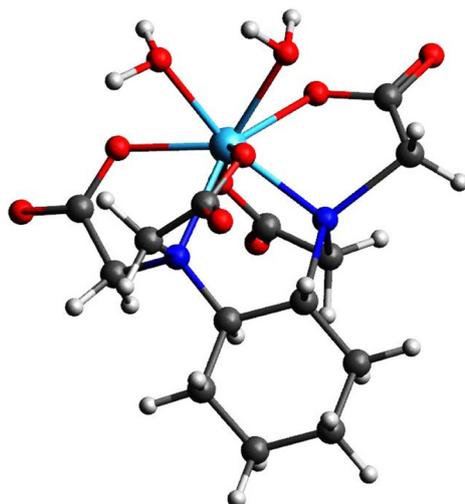
лотриуксусной кислотой (Hf-NTA) и 1,2-диаминоциклогексан-тетрауксусной кислотой (Hf-CDTA). Для полученных комплексов были изучены острая токсичность *in vivo* и биораспределение методом компьютерной томографии (КТ). Структурные формулы соединений представлены на рис. 3 и 4.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Синтез и характеристика комплексов гафния.** Подробное описание процессов синтеза и анализа комплексов гафния было опубликовано ранее [13].

**Получение комплекса  $Na_2[Hf(NTA)_2] \cdot 3H_2O$ .** Навеску нитрилотриуксусной кислоты (nitriлотриуксусной кислоты, NTA) с небольшим количеством гидроксида натрия растворяли в воде, после чего доводили значение pH раствора до 5.5 путем дополнительного добавления гидроксида натрия. После установления требуемого значения pH прибавляли навеску  $HfOCl_2 \cdot 8H_2O$ , при этом отмечалось небольшое помутнение. Раствор кипятили в течение 3 ч и упаривали до 30 мл. Охлажденный до комнатной температуры раствор центрифугировали при 3600 об/мин в течение 10 мин и декантировали. Полученный раствор упаривали до 10 мл и высаливали продуктом добавлением этилового спирта. Полученные кристаллы промывали 95%-м этиловым спиртом, отфильтровывали и кипятили в спирте 30 мин. Суспензию охлаждали, осадок отфильтровывали и высушивали. В результате был получен комплекс Hf-NTA в виде белого кристаллического порошка.

**Получение комплекса  $[Hf-CDTA(H_2O)_2]$ .** Данный комплекс получали двумя разными способами.



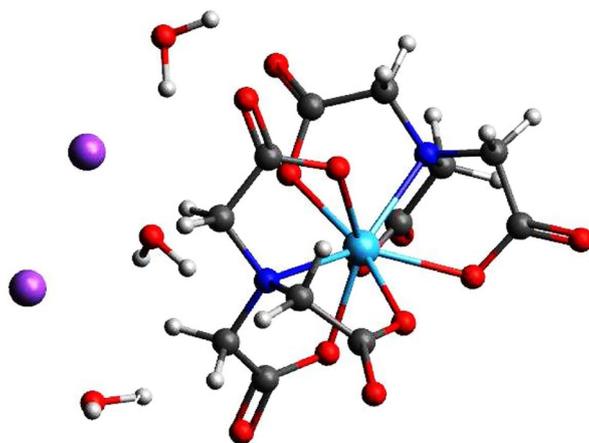
**Рис. 3.** Структурная формула комплекса Hf-CDTA. Бирюзовый – гафний, красный – кислород, светло-серый – водород, темно-серый – углерод, синий – азот.

Способ 1. Навеску 1,2-диаминоциклогексантетрауксусной кислоты (1,2-diaminocyclohexanetetraacetic acid, CDTA) с небольшим количеством гидроксида натрия растворяли в воде, pH получившегося раствора доводили до 3.5 путем добавления гидроксида натрия или соляной кислоты. После установления требуемого значения pH прибавляли навеску  $\text{HfOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ , при этом отмечалось небольшое помутнение. Раствор кипятили в течение 3 ч и упаривали до 30 мл. Охлажденный до комнатной температуры раствор центрифугировали при 3600 об/мин в течение 10 мин и декантировали. Полученный раствор упаривали до 10 мл и высаливали продукт добавлением ацетона. Перекристаллизовывали полученное соединение из 95% этилового спирта. В

результате был получен комплекс Hf-CDTA в виде белого кристаллического порошка.

Способ 2. Навески CDTA и  $\text{HfBr}_4$  растворяли в воде, после чего доводили значение pH раствора до 7.0 путем добавления гидроксида натрия, при этом отмечалось помутнение. Затем раствор отфильтровывали через мембранный фильтр, кипятили в течение 3 ч и упаривали на роторном испарителе. Порошок тщательно промывали 90% этиловым спиртом. В результате был получен комплекс Hf-CDTA в виде белого кристаллического порошка.

Комплексы Hf-CDTA, полученные двумя разными методами, имели абсолютно идентичные физические, химические и фармакологические свойства, поэтому далее в тексте они упоминаются под единым названием Hf-CDTA.



**Рис. 4.** Структурная формула комплекса Hf-NTA. Бирюзовый – гафний, красный – кислород, светло-серый – водород, темно-серый – углерод, синий – азот, пурпурный – натрий.

**Характеристика комплексов.** Полученные вещества Hf-NTA и Hf-CDTA были исследованы методами ядерной магнитно-резонансной спектроскопии (ЯМР), инфракрасной спектроскопии и рентгеноструктурного анализа.

Спектры ЯМР ( $^1\text{H}$ ) растворов исследуемых веществ записывали на ЯМР-спектрометре Avance II-300 (Bruker, Германия) на частоте 300.21 МГц с внутренней стабилизацией по дейтерию, в качестве внешних стандартов использовали тетраметилсилан.

Инфракрасные спектры синтезированных соединений записывали на ИК-Фурье-спектрометре ИНФРАЛИОМ ФТ-02 (НПФ АП «Люмекс», Санкт-Петербург, Россия) в области 400–4000  $\text{см}^{-1}$  с разрешением 1  $\text{см}^{-1}$ ; образцы готовили в виде таблеток в KBr.

Рентгеноструктурный анализ соединений проводили на рентгеновском дифрактометре APEX-II CCD (Bruker, Германия),  $\lambda_{\text{Mo}} = 0.71073 \text{ \AA}$ .

**Оценка острой токсичности комплексов гафния.** Исследование острой токсичности синтезированных комплексов гафния при внутривенном введении проводили на мышах (самках) линии C57Bl/6 с массой тела 20–22 г. Исследуемые соединения Hf-NTA и Hf-CDTA разводили в 5%-м растворе глюкозы. Введенные дозы составили для Hf-NTA 112 и 269 мг Hf/кг, а для Hf-CDTA – 194 и 387 мг Hf/кг. Каждую дозу вводили шести мышам, критерием токсичности служила общая выживаемость животных. Все павшие мыши были подвергнуты патологоанатомическому исследованию. Полулетальную дозу ( $LD_{50}$ ) определяли с помощью пробит-анализа в статистической среде R.

**Компьютерная томография.** Методом КТ была проведена прижизненная лучевая визуализация мышей (самок) линии C57Bl/6 с аденокарциномой молочной железы Ca755, трансплантированной подкожно на правую лапу. Компьютерная томография выполнена с помощью томографа IVIS Spectrum CT (Perkin Elmer Inc., США). Во время сканирования животные находились в состоянии наркоза, вызванном воздушной смесью 2% изофлурана. КТ выполняли до введения соединений гафния (нативные сканы), через 1 мин после инъекции и далее через различные промежутки времени в течение 1 ч после инъекции. Исследовали два пути введения соединений гафния: внутривенный (100 мкл) и интратуморальный (50 мкл). В качестве препарата сравнения использовали раствор официального рентгеноконтрастного средства йопромид («Ультравист», Bayer, Германия) с концентрацией йода  $[I] = 185 \text{ мг/мл}$ , раствор вводили мышам внутривенно в объеме 150 мкл.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Полулетальная доза ( $LD_{50}$ ) для Hf-CDTA по результатам пробит-анализа составила  $408 \pm 64 \text{ мг Hf/кг}$ .

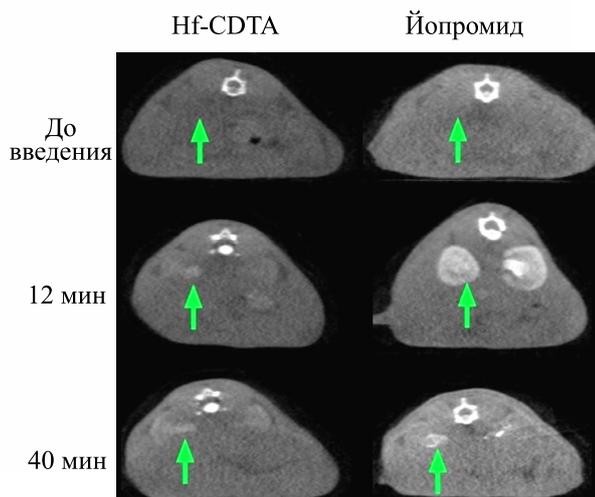
Для Hf-NTA наблюдалась 100% летальность животных при введении комплекса в дозах от 120 мг Hf/кг и выше. По результатам аутопсии были выявлены острая печеночная и почечная недостаточности, следствием чего являлись коронарная недостаточность и угнетение центральной нервной системы.

Поскольку средняя масса лабораторной мыши в эксперименте составляла 20 г, доза 120 мг Hf/кг соответствовала 2.4 мг для одной мыши. Такое количество гафния недостаточно для контрастного усиления при КТ, а также недостаточно для успешного применения комплекса в качестве ДПА при ФЗТ, поэтому исследование острой токсичности комплекса Hf-NTA было остановлено на данном этапе. Доза  $LD_{50}$  была оценена как составляющая менее 120 мг Hf/кг, но точное значение  $LD_{50}$  не было определено в эксперименте. Исследование биораспределения Hf-NTA методом КТ также не проводилось вследствие высокой токсичности комплекса, не позволяющей ввести лабораторным животным достаточное количество контрастного агента.

Для комплекса Hf-CDTA было проведено исследование контрастирующей способности и исследование биораспределения в организме лабораторных животных методом КТ. После внутривенной инъекции Hf-CDTA не было получено контрастного усиления внутренних органов, включая сердце и печень. Контрастное усиление экспериментальной опухоли также не наблюдалось. Однако органы мочевыделительной системы умеренно контрастировались: через 1 мин после инъекции лоханки почек содержали небольшое количество контрастного вещества. Постепенно, в течение времени наблюдения (1 ч), рентгеноплотность содержимого почечных лоханок увеличивалась. Кроме того, через 40 мин также умеренно контрастировалась паренхима почек (рис. 5).

В мочевом пузыре контрастное вещество определялось уже через 1 мин после инъекции, его количество также постепенно увеличивалось со временем (рис. 6).

Для сравнения контрастирующей способности была проведена КТ мышей с официальным йодсодержащим рентгеноконтрастным средством йопромид. После введения йопромидом сердце и печень мышей умеренно контрастировались, причем наибольших значений рентгеноплотность достигала сразу после введения (1 мин), а затем постепенно снижалась и возвращалась к нативному уровню к 37 мин. Почки зна-



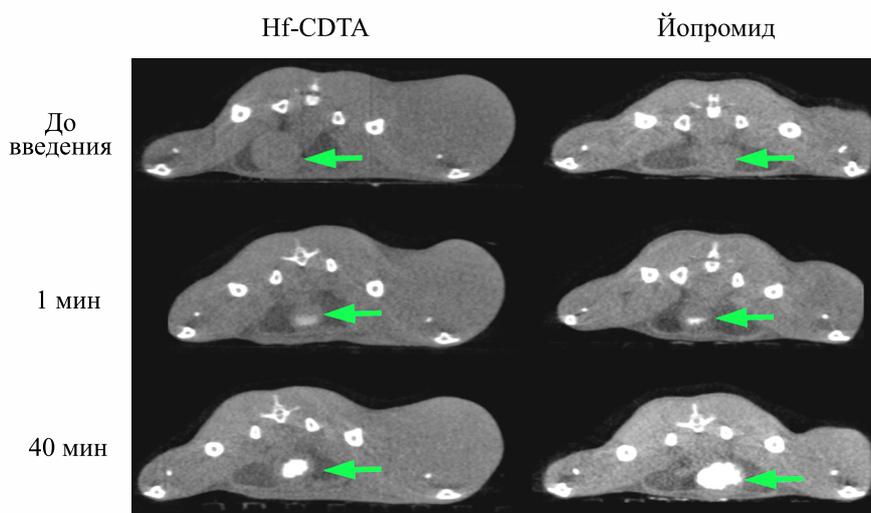
**Рис. 5.** Аксиальные КТ-срезы на уровне почек мыши до и после внутривенного введения Hf-CDTA и йопромид. Стрелкой указана лоханка левой почки.

чительно контрастировались сразу после инъекции, но через 23 мин рентгеноплотность почек резко снижалась (рис. 5). Мочевой пузырь также содержал контрастное вещество уже через 1 мин после инъекции (рис. 6). Экспериментальная опухоль после введения йопромид контрастное вещество не накапливала.

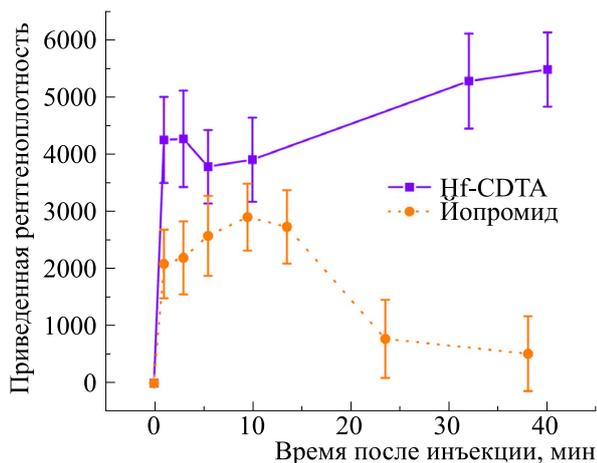
Полученные данные однозначно подтверждают экскрецию Hf-CDTA с мочой. Однако, по сравнению с йопромидом, экскреция Hf-CDTA замедлена. Рис. 7 и 8 отображают среднюю рентгеноплотность паренхимы и лоханок почек после внутривенного введения Hf-CDTA и йопромид,

приведенную ко введенной дозе контрастного агента. Hf-CDTA демонстрирует лучшую контрастирующую способность, в расчете на одинаковую введенную дозу. Однако исследованное вещество Hf-CDTA менее эффективно в качестве контрастного средства для КТ вследствие относительно высокой токсичности и низкой растворимости, что не позволяет ввести животным достаточное количество контрастного агента, сравнимое с йопромидом.

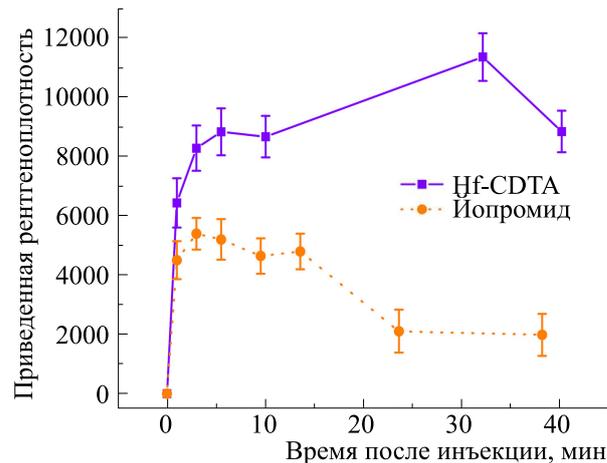
Контрастное усиление экспериментальной подкожной опухоли Ca755 не отмечалось после введения Hf-CDTA и йопромид. Вероятно, это



**Рис. 6.** Аксиальные КТ-срезы на уровне мочевого пузыря мыши до и после внутривенного введения Hf-CDTA и йопромид. Стрелка указывает на мочевой пузырь.

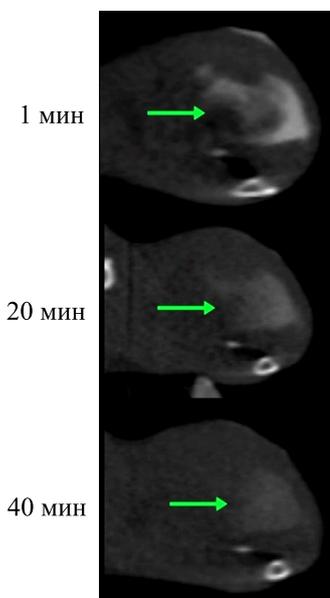


**Рис. 7.** Приведенная ко введенной дозе рентгеноплотность паренхимы почек в зависимости от времени после внутривенной инъекции Hf-CDTA (сплошная линия) и йопромида (пунктирная линия).



**Рис. 8.** Приведенная к введенной дозе рентгеноплотность содержимого почечных лоханок в зависимости от времени после внутривенной инъекции Hf-CDTA (сплошная линия) и йопромида (пунктирная линия).

связано с малым объемом циркулирующей крови у мелких лабораторных животных, вследствие чего контрастное вещество слишком быстро выводится почками и не успевает накопиться в опухоли. Однако способность подкожной Ca755 к накоплению контрастных средств была доказана ранее магнитно-резонансной томографией, имеющей большую чувствительность [14].



**Рис. 9.** Аксиальные КТ-срезы подкожной экспериментальной опухоли Ca755 в различные временные точки после интратуморальной инъекции Hf-CDTA. Стрелки маркируют область в опухоли, содержащую контрастное вещество.

Для успешной ФЗТ необходимо удержание ДПА в объеме опухоли в течение времени терапевтического облучения, поэтому на следующем этапе была выполнена КТ мышей после интратуморальной инъекции Hf-CDTA (рис. 9). Через 1 мин после интратуморальной инъекции контрастное вещество было неомогенно распределено по объему опухоли в виде гиперденсных включений. Затем наблюдалось постепенное вымывание контрастного вещества: рентгеноплотность гиперденсных включений снижалась, контуры становились нечеткими. Однако небольшое количество контрастного вещества сохранялось в опухоли в течение всего времени наблюдения (1 ч).

Органы мочевыделительной системы контрастировались медленнее, чем после внутривенного введения. Через 5 мин после интратуморальной инъекции контрастное вещество определялось в почечных лоханках, а через 22 мин — в мочевом пузыре. Паренхима почек не контрастировалась, т.к. количество введенного контрастного вещества было меньше, чем при внутривенном введении. Контрастного усиления других внутренних органов и экспериментальной опухоли также не наблюдалось.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе были синтезированы и исследованы два комплекса гафния — Hf-NTA и Hf-CDTA. Комплекс Hf-NTA продемонстрировал хорошую водорастворимость и стабильность как в физиологическом растворе, так и в 5%-м растворе глюкозы. Водный раствор Hf-NTA с концентрацией 80 мг Hf/мл был получен без каких-

либо технических сложностей. Однако острая токсичность данного комплекса слишком высока для радиобиологических исследований *in vivo*. Даже доза 120 мг Hf/кг была расценена как летальная ( $LD_{100}$ ). Таким образом, Hf-NTA невозможно ввести в живой организм в достаточном количестве для КТ-визуализации или терапевтического применения в ФЗТ.

Комплекс Hf-CDTA показал лишь удовлетворительную растворимость в воде. Максимальная достигнутая концентрация составила 30 мг Hf/мл в физиологическом растворе и 44 мг Hf/мл в 5%-м растворе глюкозы. Однако комплекс обладает благоприятными токсикологическими свойствами: полумлетальная доза ( $LD_{50}$ ) составила  $408 \pm 64$  мг Hf/кг, а максимальная переносимая доза –  $185 \pm 3$  мг Hf/кг. Для КТ мышам внутривенно вводили Hf-CDTA в дозе 4 мг – это количество гафния соответствует нижнему пределу чувствительности КТ-сканера [15]. После внутривенного введения 100 мкл раствора Hf-CDTA ( $[Hf] = 44$  мг/мл) на КТ-изображениях наблюдалось контрастное усиление почек и содержимого мочевого пузыря, что доказывает почечный путь экскреции комплекса и подтверждает его перспективность в качестве основы для разработки рентгеноконтрастных средств. Однако исследованный раствор Hf-CDTA имеет относительно высокую токсичность и низкое содержание контрастного агента по сравнению с официальными рентгеноконтрастными препаратами. Соединение Hf-CDTA нуждается в дальнейшей оптимизации и может являться платформой для разработки других лекарственных форм, таких как липосомы, клатраты и др. Содержание гафния в Hf-CDTA достаточно для успешного применения в ФЗТ [16]. Концентрация гафния (44 мг/мл) сравнима с концентрацией в препарате NBTXR3 (53.3 мг/мл), который проходит клинические испытания в качестве ДПА для лучевой терапии саркомы мягких тканей и рака головы и шеи [17, 18]. Пространственно-временные характеристики распределения и удержания Hf-CDTA в подкожной экспериментальной опухоли, оцененные методом КТ после интратуморального введения, также соответствуют условиям успешного проведения ФЗТ [19].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе были синтезированы и исследованы два комплекса гафния – Hf-NTA и Hf-CDTA. Hf-NTA продемонстрировал высокую токсичность и был признан непригодным для использования в радиобиологических исследованиях. Hf-CDTA обладал умеренной токсичностью, но относительно низким содержанием гафния. КТ-исследование показало принципиаль-

ную возможность использования Hf-CDTA в качестве основы для рентгеноконтрастных средств, однако фармакологические свойства Hf-CDTA проигрывают современным йодсодержащим рентгеноконтрастным средствам. При интратуморальном введении препарата его распределение и удержание в опухоли соответствуют требованиям для ФЗТ злокачественных новообразований, что делает его перспективным для дальнейших исследований в области экспериментальной онкологии и лучевой терапии. Кроме того, комплекс Hf-CDTA может служить основой для разработки других лекарственных форм, таких как липосомы или клатраты.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 18-13-00459).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все экспериментальные исследования проводились в соответствии с правовыми и этическими нормами работы с лабораторными животными и были одобрены локальным комитетом по этике.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kulakov V. N., Lipengol'ts A. A., Grigor'eva E. Y., and Shimanovskii N. L. Pharmaceuticals for binary radiotherapy and their use for treatment of malignancies. *Pharm. Chem. J.*, **50** (6), 388–393 (2016). DOI: 10.1007/s11094-016-1457-3
2. Kulakov V. N., Lipengol'ts A. A., and Shimanovskii N. L., Pharmaceuticals for binary radiotherapy. *Russ. J. Gen. Chem.*, **83**, 2559–2564 (2013). DOI: 10.1134/S1070363213120542
3. Sheino I. N., Izhevskij P. V., Lipengol'ts A. A., Kulakov V. N., Wagner A. A., Sukhikh E. S., and Varlachev V. F. Development of binary technologies of radiotherapy of malignant neoplasms: condition and problems. *Bull. Siber. Med.*, **16** (3), 192–209 (2017). DOI: 10.20538/1682-0363-2017-3-192-209
4. Липенгольц А. А., Арнопольская А. М., Шейно И. Н. и Кулаков В. Н. Экспериментальное подтверждение противоопухолевой эффективности нейтронзахватной терапии с гадолинием. *Онкологический журн.*, **3** (2), 63–70 (2020). DOI: 10.37174/2587-7593-2020-3-2-63-70
5. Rose J. H., Norman A., Ingram M., Aoki C., Solberg T., and Mesa A. First radiotherapy of human metastatic brain tumors delivered by a computerized tomography scanner (CTRx). *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **45**

- (5), 1127–1132 (1999). DOI: 10.1016/S0360-3016(99)00347-8
6. Adam J.-F., Vautrin M., Obeid L., Tessier A., Prezado Y., Renier M., Nemoz Ch., Brochard Th., Bravin A., Bas J., Elleaume H., Berkvens P., Balosso J., and Estève F. Contrast-enhanced Synchrotron Stereotactic Radiotherapy Clinical Trials from a Medical Physicist Point of View. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **90**, S16–S17 (2014). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2014.05.103.
  7. Lux F., Tran V. L., Thomas E., Dufort S., Rossetti F., Martini M., Truillet C., Doussineau T., Bort G., Denat F., Boschetti F., Angelovski G., Detappe A., Crémillieux Y., Mignet N., Doan B. T., Larrat B., Meriaux S., Barbier E., Roux S., Fries P., Müller A., Abadjian M. C., Anderson C., Canet-Soulas E., Bouziotis P., Barberi-Heyob M., Frochet C., Verry C., Balosso J., Evans M., Sidi-Boumedine J., Janier M., Butterworth K., McMahon S., Prise K., Aloy M. T., Ardail D., Rodriguez-Lafresse C., Porcel E., Lacombe S., Berbeco R., Allouch A., Perfettini J. L., Chargari C., Deutsch E., Le Duc G., and Tillement O. AGuIX® from bench to bedside—Transfer of an ultrasmall theranostic gadolinium-based nanoparticle to clinical medicine. *Br. J. Radiol.*, **92** (1093), 20180365 (2019). DOI: 10.1259/bjr.20180365
  8. Hainfeld J. F., Ridwan S. M., Stanishevskiy Y., Panchal R., Slatkin D. N., and Smilowitz H. M. Iodine nanoparticles enhance radiotherapy of intracerebral human glioma in mice and increase efficacy of chemotherapy. *Sci. Rep.*, **9**, 4505 (2019).
  9. Hainfeld J. F., Smilowitz H. M., O'Connor M. J., Dilmanian F. A., and Slatkin D. N. Gold nanoparticle imaging and radiotherapy of brain tumors in mice. *Nanomedicine (Lond.)*, **8** (10), 1601–1609 (2013). DOI: 10.2217/nnm.12.165
  10. Norman A., Ingram M., Skillen R. G., Freshwater D. B., Iwamoto K. S., and Solberg T. X-ray phototherapy for canine brain masses. *Radiat. Oncol. Investig.*, **5** (1), 8–14 (1997). DOI: 10.1002/(SICI)1520-6823(1997)5:1<8::AID-ROI2>3.0.CO;2-1
  11. *X-Ray Mass Attenuation Coefficients: NIST Standard Reference Database 126*. URL: <https://www.nist.gov/pml/x-ray-mass-attenuation-coefficients> (Дата обращения 17.07.2023).
  12. Bonvalot S., Rutkowski P. L., Thariat J., Carrère S., Ducassou A., Sunyach M. P., Agoston P., Hong A., Mervoyer A., Rastrelli M., Moreno V., Li R. K., Tiangco B., Herraez A. C., Gronchi A., Mangel L., Sy-Ortin T., Hohenberger P., de Baère T., Le Cesne A., Helfre S., Saada-Bouziid E., Borkowska A., Anghel R., Co A., Gebhart M., Kantor G., Montero A., Loong H. H., Vergés R., Lapeire L., Dema S., Kacso G., Austen L., Moureau-Zabotto L., Servois V., Wardelmann E., Terrier P., Lazar A. J., Bovée J. V. M. G., Le Péchoux C., and Pápai Z. NBTXR3, a first-in-class radioenhancer hafnium oxide nanoparticle, plus radiotherapy versus radiotherapy alone in patients with locally advanced soft-tissue sarcoma (Act.In.Sarc): a multicentre, phase 2-3, randomised, controlled trial. *Lancet Oncol.* **20** (8), 1148–1159 (2019). DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30326-2
  13. Shulyak A. T., Bortnikov E. O., Kubasov A. S., Selivanov N. A., Lipengolts A. A., Zhdanov A. P., Bykov A. Y., Zhizhin K. Y., and Kuznetsov N. T. Synthesis of Hafnium(IV) Polyaminoacetates. *Molecules (Basel, Switzerland)*, **26** (12), Art. 3725 (2021). DOI: 10.3390/molecules26123725
  14. Lipengolts A. A., Cherepanov A. A., Kulakov V. N., Grigorieva E. Y., Sheino I. N., and Klimanov V. A. Antitumor efficacy of extracellular complexes with gadolinium in Binary Radiotherapy. *Appl. Radiat. Isot.*, **106**, 233–236 (2015). DOI: 10.1016/j.apradiso.2015.07.051
  15. Lipengolts A. A., Budaeva J. A., Blaickner M., Cherepanov A. A., Menkov M. A., Kulakov V. N., and Grigorieva, E. Iodine quantification with computed tomography for the purpose of dose assessment in contrast enhanced radiotherapy. *Bull. Russ. State Med. Univ.*, (6), 16–19 (2016). DOI: 10.24075/brsmu.2016-06-03
  16. Lipengol'ts A. A., Cherepanov A. A., Kulakov V. N., Grigorieva E. Y., Merkulova I. B., and Sheino I. N. Comparison of the antitumor efficacy of bismuth and gadolinium as dose-enhancing agents in formulations for photon capture therapy. *Pharm. Chem.*, **51**, 783–786 (2017). DOI: 10.1007/s11094-017-1693-1
  17. Hoffmann C., Calugaru V., Borcoman E., Moreno V., Calvo E., Liem X., Salas S., Doger B., Jouffroy Th., Mirabel X., Rodriguez J., Chilles A., Bernois K., Dimitriu M., Fakhry N., and Wong Hee Kam S. Phase I dose-escalation study of NBTXR3 activated by intensity-modulated radiation therapy in elderly patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the oral cavity or oropharynx. *Eur. J. Cancer*, **146**, 135–144 (2021). DOI: 10.1016/j.ejca.2021.01.007
  18. Bonvalot S., Rutkowski P. L., Thariat J., Carrère S., Ducassou A., Sunyach M. P., Agoston P., Hong A. M., Mervoyer A., Rastrelli M., Moreno V., Li R. K., Tiangco B. J., Herraez A. C., Gronchi A., Sy-Ortin T., Hohenberger P., de Baère T., Cesne A. L., Helfre S., Saada-Bouziid E., Anghel R. M., Kantor G., Montero A., Loong H. H., Vergés R., Kacso G., Austen L., Servois V. F., Wardelmann E., Dimitriu M., Said P., Lazar A. J., Bovée J. V. M. G., Péchoux C. L., and Pápai Z. Final Safety and Health-Related Quality of Life Results of the Phase 2/3 Act.In.Sarc Study With Preoperative NBTXR3 Plus Radiation Therapy Versus Radiation Therapy in Locally Advanced Soft-Tissue Sarcoma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **114** (3), 422–432 (2022). DOI: 10.1016/j.ijrobp.2022.07.001
  19. Lipengolts A. A., Vorobyeva E. S., Cherepanov A. A., Abakumov M. A., Abakumova T. O., Smirnova A. V., Finogenova Yu. A., Grigorieva E. Yu., Sheino I. N., and Kulakov V. N. *Bull. Russ. State Med. Univ.*, **5**, 60–64 (2018). DOI: 10.24075/brsmu.2018.062

## Hafnium Complexes as Dose Enhancement Agents for Photon Capture Therapy and as Contrast Agents for Radiotherapy

A.A. Lipengolts\*, \*\*, \*\*\*, V.A. Skribitsky\*, \*\*, Yu.A. Finogenova\*, \*\*\*\*, A.T. Shulyak\*\*\*, M.A. Abakumov\*\*\*\*\*, A.Yu. Bykov\*\*\*, E.Yu. Grigorieva\*, A.V. Smirnova\*, \*\*\*\*\*, K.E. Shpakova\*, \*\*, and K.Yu. Zhizhin\*\*\*, \*\*\*\*\*

\*N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation, Kashirskoye Shosse 24, Moscow, 115478 Russia

\*\*National Research Nuclear University (Moscow Engineering Physics Institute), Kashirskoe shosse 31, Moscow, 115409 Russia

\*\*\*N.S. Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninsky prosp. 31, Moscow, 119991 Russia

\*\*\*\*Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, ul. Miklukho-Maklaya 6, Moscow, 117198 Russia

\*\*\*\*\*MIREA – Russian Technological University, prosp. Vernadskogo 78, Moscow, 119454 Russia

\*\*\*\*\*N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 117997 Russia

\*\*\*\*\*Moscow Clinical Research Center named after A. S. Loginov, Moscow Healthcare Department, Shosse Entuziastov 86, Moscow, 111123 Russia

Hafnium is a promising element as contrast agent for diagnostic and therapeutic radiology. Currently there is no suitable hafnium drugs with renal excretion, which can be used in radiology. In this work two new hafnium complexes with nitrilotriacetic acid (Hf-NTA) and 1,2-diaminocyclohexanetetraacetic acid (Hf-CDTA) were synthesized and studied for acute toxicity and biodistribution. Inorganic chemistry methods were used for Hf-NTA and Hf-CDTA synthesis. Acute toxicity was studied in female mice C57Bl/6. Biodistribution and contrast properties studies of Hf-CDTA were made *in vivo* with micro-CT. Mice with transplanted subcutaneous mammary adenocarcinoma Ca755 were used for the study. Median lethal dose ( $LD_{50}$ ) of Hf-CDTA was assessed as  $408 \pm 64$  mg Hf/kg and of Hf-NTA less than 120 mg Hf/kg. CT imaging of mice intravenously injected with Hf-CDTA confirmed its renal excretion and contrast capability. CT imaging of tumor region with single intratumoral administration of Hf-CDTA showed promising hafnium concentration and retention in tumor for use in contrast enhanced radiotherapy. Hf-CDTA showed acceptable toxicity and biodistribution in mice with subcutaneous tumors for biomedical application in radiology and radiotherapy. For diagnostic clinical application Hf-CDTA formulation must be improved to increase water solubility and decrease toxicity. Hf-NTA appeared to be unacceptably toxic for radiological application.

*Keywords: hafnium, complexes, toxicity,  $LD_{50}$ , imaging, computed tomography, contrast agent, photon capture therapy*