

ТРАНС-1,2-ДИАМИНОЦИКЛОГЕКСАН-N,N,N',N'-ТЕТРАУКСУСНАЯ КИСЛОТА (ДЦТА) КАК УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ХЕЛАТОР ДЛЯ МР-ТОМОГРАФИЧЕСКОЙ И ОДНОФОТОННОЙ ЭМИССИОННОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЛЕКСОВ С Mn (ЦИКЛОМАНГ) И ^{99m}Tc (ЦИКЛОТЕХ)

***В.Ю.Усов** – [ORCID: 0000-0002-7352-6068]

д.м.н., профессор, зав.отд. рентгеновских и томографических методов диагностики^{1,2}

М.Л.Белянин – [ORCID: 0000-0001-6669-3127]

к.х.н., доцент кафедры органической химии и биотехнологий²

А.А.Чурин – [ORCID: 0000-0002-3469-566X]

д.м.н., профессор, зав. лабораторией лекарственной токсикологии³

А.И.Безлепкин – [ORCID: 0000-0001-7342-7724]

директор⁴

О.Ю.Бородин – [ORCID: 0000-0002-5031-1355]

к.м.н., зав.отд. лучевой диагностики^{1,5,6}

М.А.Зоркальцев – [ORCID: 0000-0003-0025-2147]

д.м.н., доцент кафедры лучевой диагностики⁵

Ю.Б.Лишманов – [ORCID: 0000-0001-7324-504X]

д.м.н., профессор, член-корр. РАН, научный руководитель направления «лучевая диагностика»^{1,2}

В.В.Удуг – [ORCID: 0000-0002-3829-7132]

д.м.н., профессор, член-корр. РАН, зам.директора по научной и лечебной работе, зав.лабораторией физиологии, молекулярной и клинической фармакологии³

В.Д.Филимонов – [ORCID: 0000-0003-4729-8871]

д.х.н., профессор, кафедра органической химии и биотехнологий²

Н.Л.Шимановский – [ORCID: 0000-0001-6927-7727]

д.м.н., профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой молекулярной фармакологии⁷

¹НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН

634012 Российская Федерация, г. Томск, ул. Киевская, 111А

²Национальный Исследовательский Томский политехнический университет

634028 Российская Федерация, г. Томск, ул. Ленина, 43/2

³НИИ фармакологии Томского НИМЦ РАН

634029 Российская Федерация, г. Томск, ул. Савиных, 11

⁴ООО Ветеринарная клиника «Алдан-Вет»

634009 Российская Федерация, г. Томск, ул. Карла Маркса, 63

⁵Сибирский государственный медицинский университет

634050 Российская Федерация, г. Томск, Московский тракт, 2

⁶ОГУЗ Томский областной онкологический диспансер

634050 Российская Федерация, г. Томск, ул. Ивана Черных, 96

⁷Российский Национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова

117997 Российская Федерация, г. Москва, ул. Островитянова, 1 стр. 7

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

- транс-1,2-диаминоциклогексан-N,N,N',N'-тетрауксусная кислота (ДЦТА)
- Mn-ДЦТА
- Цикломанг
- ^{99m}Tc-ДЦТА
- Циклотех
- МРТ
- парамагнитное контрастное усиление
- ОФЭКТ
- ОФЭКТ-МРТ

АННОТАЦИЯ:

Цель исследования: провести доклинические и визуализационные испытания комплекса транс-1,2-диаминоциклогексан-N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты (ДЦТА) как универсального контрастного препарата для МР-томографической и однофотонной эмиссионной визуализации, с Mn (Цикломанг) и ^{99m}Tc (Циклотех).

Материал и методы: комплекс транс-1,2-диаминоциклогексан-N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты (ДЦТА) был синтезирован на кафедре органической химии НИ ТГУ, по оригинальной технологии в нанопорошковой фазе с использованием карбоната марганца (II), или генераторного элюата ^{99m}Tc, и NaH₂ДЦТА, с получением в итоге 0,5 М раствора Mn-ДЦТА или ^{99m}Tc-ДЦТА. В экспериментах на лабораторных мышах определялись величины LD50.

Было проведено визуализационное исследование у 4 кошек и 3 собак с злокачественными новообразованиями органов грудной клетки и у одной собаки с опухолью мостомозжечкового угла слева. Всем им выполнено последовательно МРТ с контрастным усилением Mn-ДЦТА и ОФЭКТ - с ^{99m}Tc-ДЦТА.

Результаты: для препарата Циклотех LD50 > 18/мл/кг, для 0,5М раствора Mn-ДЦТА показатель LD50 достоверно превышает 16,9 мл/кг массы. Изменений содержания марганца в плазме крови крыс при введении им Mn-ДЦТА, не происходило. Величины LD50 позволяют отнести препарат в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76. к группе 4 (малоопасные вещества). В обоих случаях в диапазоне физиологических pH константа термодинамической устойчивости > 19,3.

При исследованиях у животных при МРТ индекс усиления T1-взвешенного спин-эхо изображения опухоли во всех случаях превосходил 1,7 (в среднем 1,82±0,10). При расчете индекса «опухоль/фон» для ^{99m}Tc-ДЦТА он составил 2,6-7,3 (в среднем 4,12±1,05).

*Адрес для корреспонденции (Correspondence to): Усов Владимир Юрьевич (Usov Vladimir Y.) e-mail: usov1962@yandex.ru

Заключение: комплексы ДЦТА с марганцем (II) — для контрастирования в МРТ и с ^{99m}Tc — для ОФЭКТ - обладают неотличимыми фармакокинетическими свойствами, нетоксичны, не диссоциируют в физиологических средах и могут быть в дальнейшем использованы для контрастирования при мультимодальных МРТ-ОФЭКТ исследованиях. Комплексообразователи ^{99m}Tc с константами термодинамической устойчивости более 16 могут в ближайшей перспективе послужить важным источником для разработки парамагнитных контрастных препаратов на основе Mn.

Материал, публикуемый в данной статье, был частично представлен авторами на Втором Международном Конгрессе РадиоФарма в Москве в 2015 году.

Для цитирования. Усов В.Ю., Белянин М.Л., Чурин А.А., Безлепкин А.И., Бородин О.Ю., Зоркальцев М.А., Лишманов Ю.Б., Удут В.В., Филимонов В.Д., Шимановский Н.Л. «ТРАНС-1,2-ДИАМИНОЦИКЛОГЕКСАН-N,N,N',N'-ТЕТРАУКСУСНАЯ КИСЛОТА (ДЦТА) КАК УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ХЕЛАТОР ДЛЯ МР-ТОМОГРАФИЧЕСКОЙ И ОДНОФОТОННОЙ ЭМИССИОННОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЛЕКСОВ С MN (ЦИКЛОМАНГ) И ^{99m}Tc (ЦИКЛОТЕХ)». Ж. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ИНТЕРВЕНЦИОННАЯ РАДИОЛОГИЯ, 2020; 14(3):91–100

TRANS-1.2-DIAMINOCYCLOHEXAN-N,N,N',N'-TETRAACETIC ACID (DCTA) AS MULTIMODAL CHELATOR FOR MRI AND SINGLE-PHOTON EMISSION IMAGING USING COMPLEXES WITH MN (CYCLOMANG) AND ^{99m}Tc (CYCLOTECH)

Ussov W.Yu. – [ORCID: 0000-0002-7352-6068]*

MD, PhD, professor^{1,2}

Belyanin M.L. – [ORCID: 0000-0001-6669-3127]

PhD (chemistry)²

CHurin A.A. – [ORCID: 0000-0002-3469-566X]

MD, PhD, professor³

Bezlepkin A.I. – [ORCID: 0000-0001-7342-7724]

director⁴

Borodin O.Yu. – [ORCID: 0000-0002-5031-1355]

MD, PhD^{1,5,6}

Zorkaltsev M.A. – [ORCID: 0000-0003-0025-2147]

MD, PhD, professor⁵

Lishmanov Yu.B. – [ORCID: 0000-0001-7324-504X]

MD, PhD, professor, corresponding member of RAS^{1,2}

Udut V.V. – [ORCID: 0000-0002-3829-7132]

MD, PhD, professor, corresponding member of RAS³

Filimonov V.D. – [ORCID: 0000-0003-4729-8871]

PhD (chemistry), Doctor of Chemistry, professor²

Shimanovskiy N.L. – [ORCID: 0000-0001-6927-7727]

MD, PhD, professor, corresponding member of RAS⁷

¹ Institute of Cardiology of the Tomsk National medical research Center of the Russian Academy of Sciences
111a, Kievskaya str., Tomsk, Russian Federation, 634012

² National Research Tomsk Polytechnic University
43/2, Lenina str., Tomsk, Russian Federation, 634028

³ E.D. Goldberg Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine of the Tomsk National Medical Research Center of the Russian Academy of Sciences
11, Savinykh str., Tomsk; Russian Federation, 634029

⁴ Veterinary Clinic «Aldan-Vet»
63, Karl-Marx str., Toms, Russian Federation, 634009

⁵ Siberian State Medical University
2, Moskovskii trakt str., Tomsk, Russian Federation, 634050

⁶ Tomsk Regional Oncology Hospital
96, Ivan-Chernykh str., Tomsk, Russian Federation, 634050

⁷ Russian National Research N.I. Pirogov Medical University,
1 str. 7, Ostrovitianova str., Moscow, Russian Federation, 117997

KEY-WORDS:

- trans-1.2-diaminocyclohexan-N,N,N',N'-tetraacetic acid (DCTA)
- Mn-DCTA
- Cyclomang
- ^{99m}Tc-DCTA
- Cyclotech
- MRI
- paramagnetic contrast enhancement
- SPECT
- SPECT/MRI

ABSTRACT:

Aim: was to make preclinical and imaging tests of the trans-1,2-diaminocyclohexane-N,N,N',N'-tetraacetic acid (DCTA) complex as a universal contrast agent for MRI and single-photon emission imaging, with Mn (Cyclomang) and ^{99m}Tc- (Cyclotech), respectively.

Material and Methods: the complex of trans-1,2-diaminocyclohexane-N, N,N', N'-tetraacetic acid (DCTA) was synthesized at the department of organic chemistry of National Research Tomsk Polytechnic university, using the original technology in the nanopowder phase using manganese (II) carbonate, or generator eluate ^{99m}Tc, and NaH₂DCTA, resulting in a 0.5 M solution of Mn-DCTA or ^{99m}Tc-DCTA. LD50 values were determined in experiments on laboratory mice. A visualization study was performed in 4 cats and 3 dogs with malignant neoplasms of chest organs and in one dog with

a tumor of the left pontocerebellar angle. All of them underwent consecutively MRI with contrast enhancement with Mn-DCTA and SPECT - with ^{99m}Tc -DCTA.

Results: for Cyclotech LD50 >18/ml/kg, for 0.5 M Mn-DCTA (Cyclomang) solution, the LD50 index significantly exceeds 16.9 ml/kg BW. Changes in the content of manganese in the blood plasma of rats when they were administered Mn-DCTA, did not occur. LD50 values allow us to assign the drug in accordance with Russian regulation GOST 12.1.007-76. to group 4 (low-hazard substances). In both cases, in the range of physiological pH, the thermodynamic stability constant is >19.3. In studies in animals with MRI, the enhancement index of T1-weighted spin-echo image of the tumor in all cases exceeded 1.7 (mean 1.82±0.10). When calculating the «tumor/background» index for ^{99m}Tc -DCTA, it was 2.6-7.3 (mean 4.12±1.05).

Conclusion: DCTA complexes with manganese (II) - for enhancement in MRI and with ^{99m}Tc - for SPECT- have very close pharmacokinetic properties, are non-toxic, do not dissociate in physiological environments and can be further used for contrast enhancement in multimodal MRI-SPECT studies. Chelate agents of the ^{99m}Tc with thermodynamic stability constants over 16 may be employed in the nearest future as important source for the development of paramagnetic contrast agents binding Mn.

Введение

Совершенствование и расширение методов контрастного усиления с помощью парамагнитных контрастных средств (ПМКС) является сегодня одним из важнейших, если не важнейшим, направлением прогресса в клинической магнитно-резонансной томографической диагностике [1, 2], а в гамма-сцинтиграфии и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) использование радиофармпрепаратов (РФП), в большинстве - на основе комплексов ^{99m}Tc , вообще является основой метода, без применения которых он просто невозможен [3].

Создание все новых РФП непрерывно расширяет диагностические возможности ОФЭКТ, однако этому методу пока имманентно присуще относительно невысокое, по сравнению с спиральной рентгеновской компьютерной томографией (СРКТ) и магнитно-резонансной томографией (МРТ), пространственное разрешение, поэтому анатомо-функциональные сопоставления в практических ситуациях на основе одних только данных ОФЭКТ - трудны, именно из-за отсутствия при ОФЭКТ анатомической, не связанной с накоплением РФП, информации. Значительную пользу в таких случаях приносит получение пространственно-совмещенных ОФЭКТ-КТ, получаемых с помощью аппаратно-совмещенных сканеров, состоящих из двух таких томографов [3, 4].

СРКТ-блок в этом устройстве выступает для получения информации о распределении анатомической массы, органов и систем тела пациента для детальной ОФЭКТ-реконструкции, а также имеет и самостоятельное диагностическое значение. К сожалению, относительно высокая лучевая нагрузка при СРКТ сильно ограничивает объем, методики и использование рентгенконтрастных средств на СРКТ-этапе такого комбинированного исследования [5].

Совмещение ОФЭКТ и МРТ-изображений показало себя весьма эффективным диагностически и прогностически [6], и чаще проводится с использованием в качестве контрастных препаратов ^{99m}Tc -Технетрила со

стороны ОФЭКТ и полиацетатных линейных или циклических комплексов Gd или Mn – со стороны МРТ [7, 8], или же «бимодальных» наночастиц железа [6].

Поэтому представляет значительный интерес создание для клинической практики хелатора для радиоактивного и парамагнитного вещества с одинаковой фармакокинетикой при использовании различных методов визуализации, в частности для МРТ и ОФЭКТ (или гамма-сцинтиграфии). Для этого целесообразно использовать транс-1,2-диаминоциклогексан-N,N,N',N'-тетрауксусную кислоту (ДЦТА), обладающую высоким сродством и высокими показателями термодинамической и кинетической устойчивости как с ^{99m}Tc , так и с Mn [9].

Поэтому мы попытались оценить возможность использования транс-1,2-диаминоциклогексан-N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты (ДЦТА) в качестве универсального хелатора, пригодного для комплексообразования как парамагнетика - Mn для МРТ, так и гамма-излучателя ^{99m}Tc для ОФЭКТ, и позволяющего осуществить прямое сопоставление диагностических изображений, получаемых с их помощью.

Материалы и методы

Получение препаратов

Комплекс транс-1,2-диаминоциклогексан-N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты, с Mn^{2+} (Mn-ДЦТА, Цикломанг) был получен на кафедре органической химии НИ ТПУ, по оригинальной технологии в нанопорошковой фазе [10] с использованием оксида или карбоната марганца (II) и $\text{NaN}_2\text{ДЦТА}$, с получением в итоге 0,5 М раствора Mn-ДЦТА при отсутствии свободного марганца, токсических примесей и небольшом избыточном количестве свободного ДЦТА (до 0,75%), при pH готового раствора фармацевтической формы 6,7-7,4.

Циклотех (0,5 М раствор комплекса транс-1,2-диаминоциклогексан-N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты, меченый ^{99m}Tc - ^{99m}Tc -ДЦТА) был получен при мечении

0,5м раствора ранее синтезированного ДЦТА элюатом $^{99m}\text{TcO}_4$, полученным из стандартного коммерческого молибденового генератора ВО «Изотоп» с специфической активностью рфп для внутривенного введения 185-370 МБк/мл, при практическом отсутствии свободного радиоактивного ^{99m}Tc (фракция свободного менее 0,1%).

Квантовохимический анализ возможных форм комплекса Mn и ^{99m}Tc в водном растворе, получающихся при соединении транс-1,2-диаминоциклогексан-N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты, и оксида марганца(II) или пертехнетата был осуществлен методом функционала плотности DFT rb3lyp/6-31+g(d,p) для изолированных молекул и водных растворов (метод поляризованного проводящего диэлектрического континуума - CPCM [11, 12]

Оценка химической чистоты и физико-химических параметров

С помощью общепринятых лабораторных методов исследования [13, 14] оценивались плотность, вязкость и осмолярность Mn-ДЦТА. Химическая чистота препарата, оценивалась по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии, в пробах препарата непосредственно после его получения и спустя 3 мес., 6 мес. и 1 год. Показатели константы термодинамической стабильности и протонирования комплекса Mn рассчитывались для формирования комплекса [Mn-ДЦТА] [14].

$$K_{Mn-ДЦТА} = \frac{[Mn - ДЦТА]}{[Mn] * [H_2 ДЦТА]}$$

pH-потенциометрическое титрование выполнялось с помощью титровальной рабочей станции Methrohm 888 Titrand с помощью комбинированного электрода Metrohm-6.0233.100. При титровании все растворы (в объеме 10,0 мл) термостатировались при 25°C. Образцы перемешивались и все время находилась в атмосфере N₂ как инертного газа с целью избежать возможных эффектов CO₂.

Для калибровки pH-были использованы буферы КН-фталевой кислоты (pH=4.005) и боракса (pH=9.177). Также хроматографически определялась концентрация комплексов ДЦТА в пробах крови мышей при расчете объема распределения препарата [13]

У мышей оценивались показатели токсичности при однократном введении по стандартной методике [13]. При этом введение осуществлялось в дозировках от 1 до 20 мл/кг веса для 0,5М раствора Mn-ДЦТА, с шагом в 2 мл, по 12 животных в группе, и от 1 до 16 мл/кг веса для ^{99m}Tc - ДЦТА. Несколько меньшая верхняя граница исследуемой дозы для ^{99m}Tc - ДЦТА была вызвана тем, что при ней на первый план выходят не возможные токсические эффекты ДЦТА, а повышение дозы внутреннего облучения от радиоактивной метки - ^{99m}Tc .

Исследования визуализационных свойств у животных. Было проведено опытное визуализационное исследо-

вание у 4 кошек и 3 собак со спонтанными злокачественными новообразованиями органов грудной клетки и передних конечностей и у одной собаки с опухолью мостомозжечкового угла слева (все ветеринарные пациенты). Во всех случаях было получено информированное согласие хозяев животных.

Всем им было выполнено последовательно одно за одним МР-томографическое исследование с парамагнитным контрастным усилением Mn-ДЦТА и ОФЭКТ грудной клетки с ^{99m}Tc -ДЦТА, с интервалом от 5 до 23 часов между ними.

При проведении МРТ органов грудной клетки с парамагнитным контрастным усилением Mn-ДЦТА, доза вводимого препарата составила 2 мл/10 кг массы тела. В матрицу 256×256 до и спустя 10-15 мин после внутривенного введения Mn-ДЦТА записывали изображения в T1- взвешенных спин-эхо протоколах (TR=450-500 мс, TE=10-12 мс), в аксиальных, сагиттальных и фронтальных плоскостях. При этом область сканирования полностью охватывала грудную клетку и составляла в размерах в аксиальной плоскостиках правило 250×250 мм.

Также у всех обследованных животных выполнялись стандартные протоколы исследования в T2-взвешенном режиме в аксиальных и фронтальных плоскостях, до введения контраста - парамагнетика.

При ОФЭКТ с введением 37- 54 МБк ^{99m}Tc - ДЦТА, при удельной активности 70 - 184 МБк/мл, т. е. в объеме 0,4-0,9 мл, спустя 10 минут после введения РФП записывалось 32-64 планарных проекции на полный оборот детекторов томографической гамма-камеры, в матрицу 64×64 элемента, при размере поля зрения 250 мм, при времени записи 12-15 сек на проекцию.

Затем методом обратных проекций реконструировались поперечные томосрезы тела исследуемого животного, также в матрицу 64×64, толщиной по 5-8 мм. При всех скинтиграфических исследованиях использовался коллиматор высокого разрешения для низких энергий, с настройкой на пик излучения 140 КэВ для ^{99m}Tc .

Все МР-томографические исследования были проведены с использованием МР-томографов Magnetom Open (0,2Т, производства Siemens Medical) и Toshiba Titan Vantage (1,5 Т, производства Toshiba Medical, в настоящее время Canon Inc.).

ОФЭКТ-исследования были проведены с использованием 2-х детекторных гамма-камер BrightView (пр-ва Philips) и Symbia T16 (пр-ва Siemens Medical).

Обработка изображений как ОФЭКТ, так и МРТ осуществлялась с помощью пакета прикладных программ для обработки изображений RadiAnt (Medixant, Познань, Польша) [15].

Совмещение изображений МРТ и ОФЭКТ проводилось частично также и средствами программного пакета R-View (автор: Colin Studholme, Harvard Medical School; <http://rview.colin-studholme.net>).

Статистическая оценка и визуализация результатов проводилась с применением пакета прикладных программ Origin 6.1 (OriginLab, Техас), с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты

Острая токсичность Mn-ДЦТА оценивалась по величинам LD₅₀.

При первоначальном введении как Mn-ДЦТА, так и ^{99m}Tc-ДЦТА в дозе 10 мл/кг внутривенно однократно мышам (максимальный допустимый объем для введения этим лабораторным животным), гибели животных не наблюдалось.

Патологических изменений общего состояния, динамики общей массы, функциональной активности и морфологии изученных внутренних органов и систем в сроки до 2-х недель в достоверных количествах не было отмечено.

Большие чем 16 мл/кг массы тела дозы ^{99m}Tc-ДЦТА в дальнейшем не вводились из-за повышения лучевого воздействия ^{99m}Tc, безотносительно фармакологических и токсических свойств комплекса.

Расчетно-оценочно для препарата Циклотех дал величину LD₅₀>18 /мл/кг Для 0,5M раствора Mn-ДЦТА показатель LD₅₀ достоверно превысил 16,9 мл/кг массы.

Изменений содержания марганца в плазме крови крыс при введении им Mn-ДЦТА в дозе вплоть до 20 мл/кг массы тела, не происходило. Величины LD₅₀

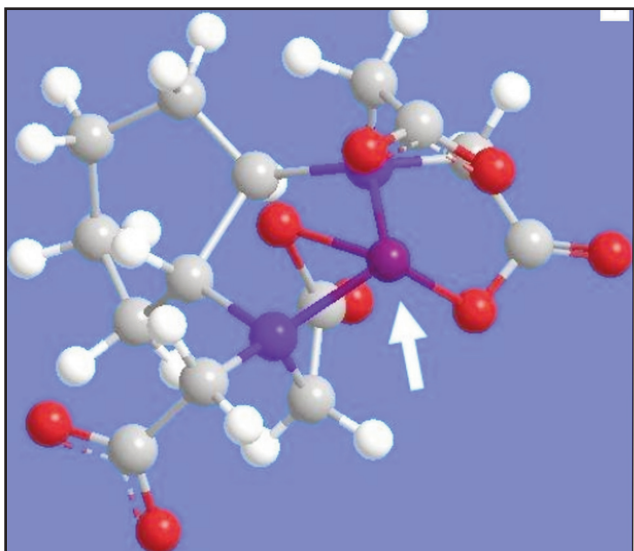


Рис. 1. Пространственная структура транс-1,2-диаминоциклогексан-N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты (ДЦТА) при формировании комплексонатов с Mn (Цикломанг) или ^{99m}Tc (Циклотех), по данным квантово-химического моделирования. Хелатируемые Mn или ^{99m}Tc представлены фиолетовым (стрелка), углерод – серым, кислород – красным, водород – белым, азот – синим.

позволяют отнести препараты в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76. к группе 4 (малоопасные вещества).

Биофизические и фармакологические свойства препаратов

Структура цикломанга и циклотеха, по данным квантово-химического анализа оказалась практически идентичной и представлена на **рисунке 1**.

В обоих случаях в диапазоне физиологических pH константа термодинамической устойчивости превосходила 19,3, благодаря наличию тетраденатной устойчивой конфигурации молекулы комплекса. Объем распределения при введении внутривенно, на 15 минут после инъекции обоих препаратов достоверно не отличался и составлял для Цикломанга $1,08 \pm 0,07$ от объема плазмы, а для Циклотеха $1,11 \pm 0,09$ ($p > 0,5$ при сравнении препаратов) от объема плазмы. Препараты демонстрировали биэкспоненциальный клиренс крови с показателями времени полувыведения для первой фазы для цикломанга $14,2 \pm 1,1$ мин и для циклотеха $14,7 \pm 1,9$ мин ($p > 0,5$), и для второй фазы – медленного выведения 52 ± 6 мин и 51 ± 7 мин ($p > 0,5$), соответственно.

При МР-томографических исследованиях индекс усиления T1-взвешенного спин-эхо изображения опухоли во всех случаях превосходил 1,7 (составляя в среднем $1,82 \pm 0,10$, $n=8$).

При расчете индекса «опухоль/фон» для ^{99m}Tc-ДЦТА он составил 2,6-7,3 (в среднем $4,12 \pm 1,05$, $n=8$).

Типичный пример накопления комплексов Mn-ДЦТА и ^{99m}Tc -ДЦТА у кошки с массивной неходжкинской лимфомой в области грудной клетки, с охватом как подмышечных, так и внутригрудных лимфоузлов, можно видеть на **рисунках 2,3**.

На **рисунке 4** представлен пример совмещенного МРТ с контрастным усилением Mn-ДЦТА, и ОФЭКТ с использованием ^{99m}Tc-ДЦТА у собаки с опухолью мостомозжечкового угла слева. В этом случае зона включения опухолетропного РФП заметно больше, чем участок включения Mn-ДЦТА, что ясно видно на совмещенном ОФЭКТ-МРТ томосрезе (**рис.4в**).

Обсуждение

Создание и совершенствование методов мультимодальной томографической визуализации патологических процессов представляет собой одно из важнейших направлений развития современной лучевой диагностики [1-3, 8, 16].

Наиболее распространенным методом является использование совмещенной ПЭТ/КТ, когда анатомическая структура оценивается по данным спиральной компьютерной томографии, а перфузионные, рецепторные и метаболические изменения в тканях средствами ПЭТ с соответствующим РФП [3, 16, 17].

Перспективным развитием этого подхода считается созданием технологий, совмещенных МРТ/ПЭТ-скане-

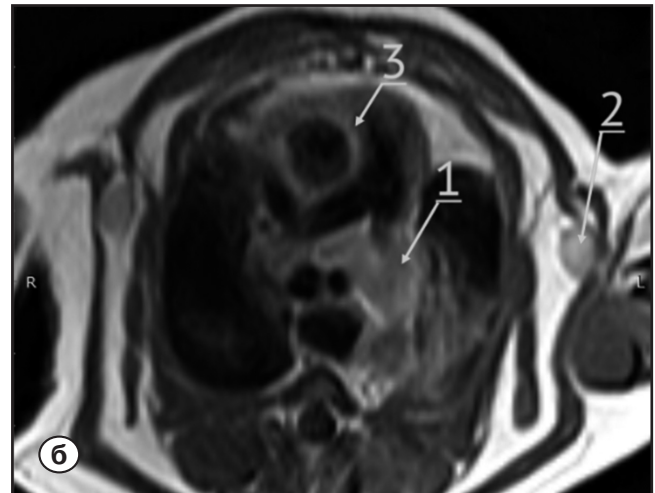
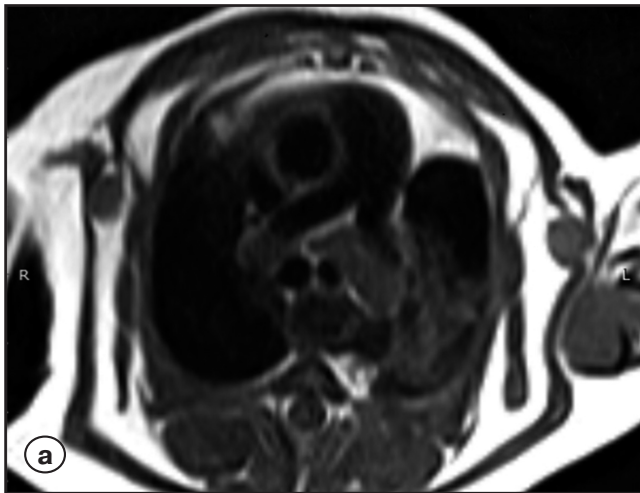


Рис. 2. Картина парамагнитного контрастного усиления поражения грудной клетки на T1-взв. спин-эхо МРТ с Mn-ДЦТА у кошки с распространенной неходжкинской лимфомой. Масса тела кошки около 3,5 кг.
 а – исходный аксиальный T1-взв. МРТ-скан, до парамагнитного контрастного усиления. Значительное увеличение подмышечных лимфоузлов, обширный конгломерат в области средостения и корня левого легкого;
 б – T1-взв. спин-эхо МРТ после контрастного усиления Mn-ДЦТА, спустя 12 минут после введения контрастного препарата. Визуализируется высокоинтенсивное накопление контраста-парамагнетика в лимфомной ткани поражения средостения (1) и левой подмышечной впадины (2) и по ходу стенки восходящей аорты (3).

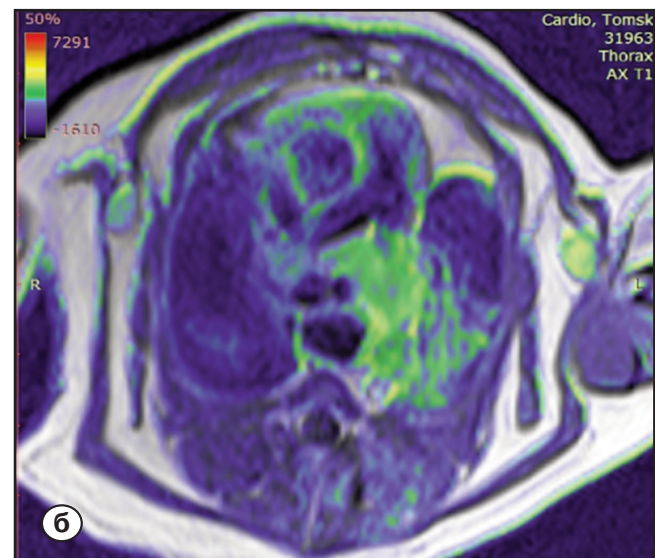
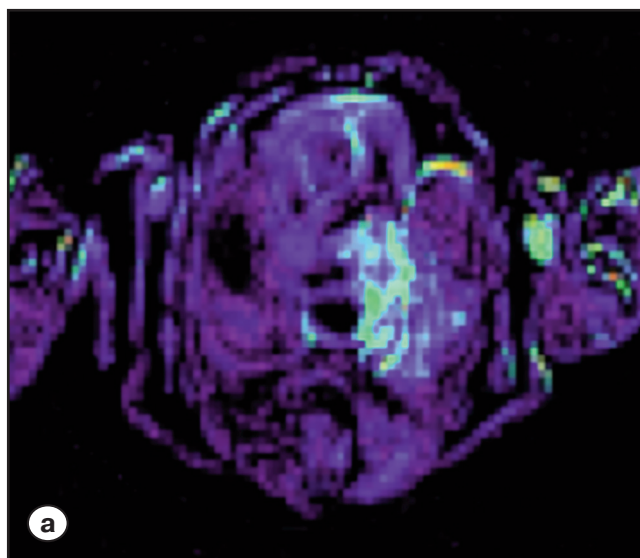


Рис. 3. Картина ОФЭКТ с ^{99m}Tc -ДЦТА (а) и совмещенной ОФЭКТ-МРТ (б) у того же животного, что и на рисунке 2.
 а – ОФЭКТ с ^{99m}Tc -ДЦТА, полученная на 10-15 минуте после введения 74 МБк РФП внутривенно. Аксиальный томосрез грудной клетки на уровне выше сердца. Накопление ^{99m}Tc -ДЦТА ярче всего в подмышечной области слева, хорошо визуализируются патологические внутригрудные очаги аккумулирующие РФП.
 б – Совмещенная скан-картина распределения ^{99m}Tc -ДЦТА при ОФЭКТ грудной клетки с исходной (до контрастного усиления) T1-взв. МРТ. ОФЭКТ-изображение в цветной кодировке, МРТ как градации серого. Можно видеть (см рис. 2) что оба изображения практически совпадают и распределение комплексов ДЦТА с Mn и ^{99m}Tc в обоих случаях практически одинаковое.

ров, однако их практическая реализация наталкивается на ряд проблем, и в частности чрезвычайно высокую стоимость исследования и самого такого сканера [16]. Комбинация ОФЭКТ/КТ и ОФЭКТ/МРТ с экономических позиций является более приемлемой. ОФЭКТ/КТ показало свою высокую полезность в кардиологических исследованиях миокарда [18], а

ОФЭКТ/МРТ - в неврологии и онкологии [7, 8, 19]. Однако во всех этих исследованиях как правило использовались комбинации различных по физиологической природе контрастных препаратов как, например, комплексы Gd при МРТ и ^{99m}Tc -Технетрил при ОФЭКТ, при ОФЭКТ/МРТ-исследованиях глиом головного мозга в динамике лечения [8].



Рис. 4. Картина сочетанной МРТ и ОФЭКТ визуализации опухоли мостомозжечкового угла слева у собаки.
 а – картина МР-томограммы головы у собаки во фронтальной плоскости на уровне мостомозжечковых углов, в T1- взвешенном спин-эхо режиме (TR= 500 мс, TE = 12 мс). Область расположения опухоли визуализируется как гипоинтенсивный участок изображения в мосто-мозжечковом углу (длинная тонкая стрелка);
 б – тот же срез после парамагнитного контрастного усиления Mn-ДЦТА. В области опухоли мосто-мозжечкового угла хорошо видно усиление изображения опухоли за счет накопления в ней Mn-ДЦТА (длинная тонкая стрелка);
 в – Изображение ОФЭКТ головы собаки с использованием ^{99m}Tc -ДЦТА (в цвете) совмещено с картиной МРТ с парамагнитным контрастным усилением Mn-ДЦТА (в градациях серого). ОФЭКТ с ^{99m}Tc -ДЦТА получено на 12-17 минуте после введения 74 МБк РФП. Тонкой длинной стрелкой отмечена область опухолевого включения РФП, более протяженная, чем опухолевое включение парамагнетика при МРТ с Mn-ДЦТА. Короткая стрелка отмечает физиологическое накопление ^{99m}Tc -ДЦТА в гипофизе.

Однако особый интерес представляло бы появление хелатора, которые бы одинаково эффективно хелатировали как радионуклидную метку, желателно ^{99m}Tc (самый распространенный, легко получаемый генераторный нуклид для ядерной медицины), так и парамагнетик, для МР-томографической регистрации.

В Менделеевской таблице соседями ^{99m}Tc по седьмой группе являются с одной стороны Рений, а с другой – Марганец, причем комплексообразование различных хелатирующих молекул с этими элементами весьма сходно [20, 21].

Марганец сегодня весьма и весьма уступает по распространенности в качестве парамагнитного иона в составе контрастных препаратов наиболее широко используемому гадолинию. Однако ряд комплексов марганца показали себя как возможные или достаточно перспективные контрасты — парамагнетики, в частности комплексы Mn с диэтилентриаминпентауксусной кислотой [22], с производными фталоцианатов [23], с метоксиизобутилизонитрилом [24], с димеркаптоянтарной кислотой [25], с гексаметилпропиленаминосимом [26].

В связи с этим, мы в первую очередь остановили свой выбор на диаминоциклогексантетраацетате (ДЦТА) как надежном хелаторе 2-х и 3-х валентных металлов. Нельзя не отметить здесь, что весьма широкий спектр других хелатирующих агентов, синтезированных в 1950-1980-х гг., как для Gd, так и других парамагнетиков, в том числе редкоземельных, все еще ждет своего приложения [27, 28].

Как можно видеть из представленных выше данных,

термодинамическая устойчивость молекул Mn-ДЦТА и ^{99m}Tc -ДЦТА оказалась вполне достаточной для отсутствия их диссоциации в организме экспериментальных животных. По показателям LD50 Mn-ДЦТА и ^{99m}Tc -ДЦТА оказываются препаратами, безусловно принадлежащими к группе 4 (малоопасные вещества), а кинетика их выведения – кривые клиренса крови, не различается. С полученными ранее значениями для Mn-ДЦТА, в том числе токсикологических показателей [29], результаты представленного здесь исследования также не различались.

У ветеринарных пациентов анатомический характер накопления Mn-ДЦТА и ^{99m}Tc -ДЦТА в опухолевых процессах оказался практически конгруэнтным пространственно (рис. 2-5). Это позволяет использовать комплексы ДЦТА с Mn и ^{99m}Tc для ОФЭКТ/МРТ изучения опухолевых процессов, физиологических и патофизиологических исследований почек, пока в эксперименте.

Комбинированные МРТ-ОФЭКТ сканеры пока лишь разрабатываются для клинического применения, хотя для экспериментальных исследований существуют надежные зарекомендовавшие себя модели, такие как nanoScan (MedIso, www.mediso.com). Однако вычислительное программное совмещение изображений вполне может быть эффективной заменой при отсутствии пока такой техники [7, 8].

Нельзя не отметить здесь некоторых ограничений, пока не преодоленных в нашем исследовании. В первую очередь это вопрос о том, не будет ли в каких-либо условиях происходить вымывание Mn или ^{99m}Tc

в крови при их совместном введении за счет реакций типа трансметаллирования [14]. Экспериментальное исследование этого в настоящее время ведется. Кроме того, представляет практический интерес исследование парамагнитных свойств собственно ^{99m}Tc , насколько его присутствие изменяет релаксивность R1 комплексов Mn.

Представляется весьма перспективным исследование возможности распространить предложенный здесь подход на совместное использование для ОФЭКТ-МРТ соединений ДМСА с Mn и ^{99m}Tc [25], и МИБИ с Mn и ^{99m}Tc [24]. Однако уже сегодня вполне очевидно, что получение комбинированного препарата для одновременной или последовательной ОФЭКТ/МРТ визуализации с помощью комплекса ДЦТА с ^{99m}Tc и с Mn вполне возможно и может быть доведено до клинического использования.

Заключение

Таким образом, комплекс транс-1,2-диаминоциклогексан-N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты с марганцем (II) для контрастирования в МР-томографии и технецией- 99m для гамма-сцинтиграфических исследований обладают неотличимыми фармакокинетическими свойствами, нетоксичны, практически не диссоциируют в физиологических средах и могут быть в дальнейшем использованы для контрастирования при мультимодальных МРТ-ОФЭКТ томографических исследованиях.

Комплексообразователи ^{99m}Tc с константами термодинамической устойчивости более 16 могут в ближайшей перспективе послужить важным источником для разработки парамагнитных контрастных препаратов на основе Mn, в том числе органотропных. ■

Авторы искренне благодарят Д-ра Colin Studholme за возможность использования программного пакета обработки изображений R-View в формате свободного программного обеспечения.

Список литературы

1. Панов В.О., Шимановский Н.Л. Диагностическая эффективность и безопасность макроциклических гадолинийсодержащих магнитно-резонансных контрастных средств. *Вестник рентгенологии и радиологии*. 2017; 98(3): 159-166. <http://doi.org/10.20862/0042-4676-2017-98-3-159-166>
2. Шимановский Н.Л., Епинетов М.А., Мельников М.Я. Молекулярная и нанофармакология. М. 2009; 624.
3. Национальное руководство по радионуклидной диагностике. Т.1. (Под ред. Ю.Б. Лишманова, В.И. Чернова). Томск. STT Publ. 2010; 432.
4. Литвиненко И.В. Возможности ОФЭКТ-КТ в диагностике стенозов коронарных артерий. *Медицинская визуализация*. 2015; (2): 53-66.
5. Наркевич Б.Я., Рыжков А.Д., Комановская Д.А. и др. Оценка радиационных рисков при проведении ОФЭКТ/КТ костей скелета. *Медицинская физика*. 2019; 3 (83): 66 - 74.
6. Madru R., Kjellman P., Olsson F., et al. ^{99m}Tc -labeled superparamagnetic iron oxide nanoparticles for multimodality SPECT/MRI of sentinel lymph nodes. *J Nucl Med*. 2012; 53(3): 459-463. <http://doi.org/10.2967/jnumed.111.092437>
7. Оноприенко А.В., Костеников Н.А., Величко О.Б. и др. Использование совмещенных изображений на основе МРТ с контрастным усилением и ОЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом в диагностике злокачественных рецидивных глиом. *Медицинская визуализация*. 2004; (5): 38-46.
8. Оноприенко А.В., Величко О.Б., Минин С.М., и др. Визуальная картина эффективного медикаментозного лечения низкодифференцированной глиобластомы головного мозга при совмещении контрастированной МРТ с ^{99m}Tc -Технетрилом. *Медицинская визуализация*. 2006; (2): 99-103.
9. Ussov W.Yu., Belyanin M.L., Bezlepkin A.I. et al. Magnetic Resonance Imaging of Brain Involvement in Dogs Using Paramagnetic Contrast Enhancement with Mn(II)-DCTA. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016; 161: 715-718. <http://doi.org/10.1007/s10517-016-3492-1>
10. Белянин М.Л., Федущак Т.А., Филимонов В.Д. и др. Твердофазное нанодисперсное получение и оценка свойств комплекса марганца с диэтилентриаминпентауксусной кислотой как контрастного препарата для магнитно-резонансной томографии. *Сибирский медицинский журнал (Томск)*. 2008; 23(2): 33-36.
11. Зевацкий Ю.Э., Самойлов Д.В. Эмпирический метод учета влияния растворителя на константы диссоциации карбоновых кислот. *Журнал органической химии*. 2008; 44(1): 59-68.
12. 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 $^{2+}$, Hg $^{2+}$ and Pb $^{2+}$) for pharmaceutical and biological applications. *Journal of Molecular Structure*. 2019; (1176): 901-907.
13. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М. Гриф и К. 2012; 944.

14. Россотти Ф., Россотти Х. . Определение констант устойчивости и других констант равновесия в растворах. – М. Мир. 1965; 564.
15. Medixant. RadiAnt DICOM Viewer [Software]. Version 2020.1. Mar 9, 2020.
<https://www.radiantviewer.com>
16. Ehman E.C., Johnson G.B., Villanueva-Meyer J.E. et al. PET/MRI: Where might it replace PET/CT? *J Magn Reson Imaging*. 2017 Nov;46(5):1247-1262.
<http://doi.org/10.1002/jmri.25711>
17. Hochegger B., Alves G.R., Irion K.L. et al. PET/CT imaging in lung cancer: indications and findings. *J.Bras.Pneumol*. 2015; 41(3): 264-74.
<http://doi.org/10.1590/S1806-37132015000004479>
18. Аншелес А.А., Сергиенко В.Б. Интерпретация перфузионной ОЭКТ миокарда с КТ-коррекцией поглощения. Вестник рентгенологии и радиологии. 2020; 101(1): 6-18.
<http://doi.org/10.20862/0042-4676-2020-101-1-6-18>
19. Усов В.Ю., Синицын В.Е., Обрадович В. и др. Оценка реактивности кровотока головного мозга с помощью аденозиновой пробы у пациентов со стенозом сонных артерий по данным МРТ и эмиссионной томографии с ^{99m}Tc-ГМПАО. Вестник рентгенологии и радиологии. 2000; 81(6): 4-9.
20. Berry D.J., Torres Martin de Rosales R., Charoenphun P., Blower P.J. Dithiocarbamate complexes as radiopharmaceuticals for medical imaging. *Mini Rev Med Chem*. 2012; 12(12): 1174-1183.
<http://doi.org/10.2174/138955712802762112>
21. Бурилова Е.А., Зиятдинова А.Б., Зявкина Ю., Амиров Р.Р. Влияние водорастворимых полимеров на образование комплексов марганца(II) в растворах. 1. Комплексы с ЭДТА. Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. 2013; 155(2); 10-25.
22. Белянин М.Л., Првулович М., Карпова Г.В. и др. Синтез и оценка мангапентетата как парамагнитного контрастного препарата для МР-томографии. *Диагностическая и интервенционная радиология*. 2008; 2(1): 75-86.
23. Меерович И.Г., Гуляев М.В., Меерович Г.А. и др. Исследование контрастных агентов на основе производных фталоцианинов для магнитно-резонансной томографии. *Российский химический журнал*. 2013. 57(2): 110-114.
24. Усов В.Ю., Белянин М.Л., Кодина Г.Е. и др. Магнитно-резонансная томография миокарда с парамагнитным контрастным усилением Mn-метоксиизобутилизонитрилом (Mn-МИБИ) в эксперименте. *Медицинская визуализация*. 2016; (1): 31-38.
25. Усов В.Ю., Безлепкин А.И., Коваленко А.Ю. и др. Доклиническое исследование парамагнитного контрастного усиления комплексом Mn(II) с димеркаптоянтарной кислотой при магнитно-резонансной томографии первичной опухоли и метастатических поражений при раке молочной железы. *Лучевая диагностика и терапия*. 2020; (1 (11)): 70-77.
<http://doi.org/10.22328/2079-5343-2020-11-1-70-77>
26. Усов В.Ю., Белянин М.Л., Филимонов В.Д. и др. Теоретическое обоснование и экспериментальное исследование комплекса Mn(II) с гексаметилпропиленаминоксидом в качестве парамагнитного контрастного средства для визуализации злокачественных новообразований. *Лучевая диагностика и терапия*. 2019; (2 (10)): 42-49.
<http://doi.org/10.22328/2079-5343-2019-10-2-42-49>
27. Серебренников В.В. Химия редкоземельных элементов (скандий, иттрий, лантаниды). Томск. Изд-во ТГУ. 1959; 531.
28. Батырева В.А., Козик В.В., Серебренников В.В., Якунина Г.М. Синтезы соединений редкоземельных элементов. Томск. Изд-во ТГУ. 1983; 144.
29. Усов В.Ю., Белянин М.Л., Безлепкин А.И. и др. Исследование комплекса Mn-транс-1,2-диаминоциклогексан-N,N',N'-тетраацетата (цикломанга) в качестве парамагнитного контрастного препарата для магнитно-резонансной томографии. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2013; 76(10): 32-38.

References

1. Panov VO, Shimanovskiy NL. The diagnostic efficacy and safety of macrocyclic gadolinium-based magnetic resonance contrast agents. *Russian J Radiol*. 2017; 98(3): 159 -166 [In Russ].
<http://doi.org/10.20862/0042-4676-2017-98-3-159-166>
2. Shimanovskiy NL, Epinetov MA, Melnikov MYa. Molecular and nanopharmacology. Moscow, 2009; 624 [In Russ].
3. National guidebook on nuclear medicine. Vol.1. Ed. by Lishmanov YuB, Chernov VI. Tomsk. STT Publ. 2010; 432 [In Russ].
4. Litvinenko IV. The possibility of SPECT-CT in the diagnosis of coronary artery stenoses. *Medical Visualization*. 2015; (2): 53 - 66 [In Russ].
5. Narkevich BYa, Ryzhkov AD, Komanovskaya DA et al. Estimation of radiation risks in SPECT/CT of skeletal bones. *Medical Physics*. 2019; 3 (83): 66 - 74 [In Russ].
6. Madru R, Kjellman P, Olsson F et al. ^{99m}Tc-labeled superparamagnetic iron oxide nanoparticles for multimodality SPECT/MRI of sentinel lymph nodes. *J Nucl Med*. 2012; 53(3): 459-463.
<http://doi.org/10.2967/jnumed.111.092437>
7. Onoprienko AV, Kostenikov NA, Velichko OB, et al. Use of Fused Images Combining Contrast-Enhanced MRI

and ^{99m}Tc -MIBI SPECT in Diagnosis of Recidive Gliomas. *Medical Visualization*. 2004; (5): 38-46 [In Russ].

8. Onoprienko A.V., Velichko O.B., Minin S.M. et al. Imaging of a Successful Medical Treatment of a Multiforme Glioblastoma by Means of Combination of Contrast-enhanced MRI and SPECT with ^{99m}Tc -Technetrit. *Medical Visualization*. 2006; (2); 99-103 [In Russ].

9. Ussov WYu, Belyanin ML, Bezlepkin AI et al. Magnetic Resonance Imaging of Brain Involvement in Dogs Using Paramagnetic Contrast Enhancement with Mn(II)-DCTA. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016; 161: 715–718. <http://doi.org/10.1007/s10517-016-3492-1>

10. Belyanin ML, Fedoushchak TA, Filimonov VD et al. Solid-nanophase synthesis and evaluation of manganese (II) complex with diethylentriaminopentaacetic acid as contrast agent for magnetic resonance imaging. *Siberian medical journal (Tomsk)*. 2008; 23(2): 33-36 [In Russ].

11. Zevatskiy YuE, Samoilov DV. Empiric method of quantification of influence of dissolvent on dissociation constants of carbonic acids. *Zhurnal organicheskoi khimii*. 2008; 44(1): 59-68 [In Russ].

12. 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^{2+} , Hg^{2+} and Pb^{2+}) for pharmaceutical and biological applications. *Journal of Molecular Structure*. 2019; (1176): 901-907.

13. Mironov AN. Guidelines for conducting preclinical research of drugs. *M. Grif and K Publ.house*. 2012; 944 [In Russ].

14. Rossotti F, Rossotti X. Determination of stability constants and other equilibrium constants in solutions. *M. Mir Publ.house*. 1965; 564 [In Russ].

15. Medixant. RadiAnt DICOM Viewer [Software]. Version 2020.1. Mar 9, 2020.

URL: <https://www.radiantviewer.com>

16. Ehman EC, Johnson GB, Villanueva-Meyer JE et al. PET/MRI: Where might it replace PET/CT? *J Magn Reson Imaging*. 2017; 46(5): 1247-1262. <http://doi.org/10.1002/jmri.25711>

17. Hochegger B, Alves GR, Irion KL et al. PET/CT imaging in lung cancer: indications and findings. *J. Bras. Pneumol.* 2015; 41(3): 264-274. <http://doi.org/10.1590/S1806-37132015000004479>

18. Ansheles AA., Sergienko VB. Interpretation of myocardial perfusion SPECT with attenuation correction. *Russian Journal of Radiology*. 2020; 101(1): 6-18 [In Russ]. <http://doi.org/10.20862/0042-4676-2020-101-1-6-18>

19. Ussov WYu., Siniitsyn VE., Obradovich V. et al. Patterns of cerebral blood flow reactivity in adenosine stress-test in patients with carotid stenosis, evaluated with MRI

and ^{99m}Tc -HMPAO SPECT brain study. *Russian Journal of Radiology*. 2000; 81(6): 4 - 9 [In Russ].

20. Berry DJ, Torres Martin de Rosales R, Charoenphun P, Blower PJ. Dithiocarbamate complexes as radiopharmaceuticals for medical imaging. *Mini Rev Med Chem*. 2012; 12(12):1174-1183. <http://doi.org/10.2174/138955712802762112>

21. Burilova EA, Ziyatdinova AB, Zyavkina Yul, Amirov RR. Influence of water-soluble polymers on the formation of Manganese(II) complexomated in solutions. I Complexes with EDTA. Research proceedings of the Kazan University. *Natural Sciences*. 2013; 155(2); 10-25 [In Russ].

22. Belyanin ML, Prvulovich M, Karpova GV et al. Synthesis and evaluation of mangapentetate as paramagnetic contrast agent for magnetic resonance imaging. *Diagnostic and Interventional Radiology*. 2008; 2(1): 75-86 [In Russ].

23. Meerovich IG, Gulyaev MV, Meerovich GA et al. Study of contrast agents based on phthalocyanin derivatives for magnetic resonance imaging. *Russian chemical journal*. 2013. 57(2): 110-114 [In Russ].

24. Ussov WYu, Belyanin ML, Kodina GE et al. Magnetic resonance imaging of myocardium with paramagnetic contrast enhancement with Mn-methoxyisobutylisonitrile (Mn-MIBI) in an experiment. *Medical visualization*. 2016; (1): 31-38 [In Russ].

25. Ussov WYu, Bezlepkin AI, Kovalenko AYu et al. Pre-clinical study of paramagnetic contrast enhancement with Mn(II)-dimercaptosuccinate complex in magnetic resonance imaging of primary tumor and metastatic spread of breast cancer. *Diagnostic Radiology and Radiation Therapy*. 2020; (1 (11)): 70-77 [In Russ]. <http://doi.org/10.22328/2079-5343-2020-11-1-70-77>

26. Ussov WYu, Belyanin ML, Filimonov VD et al. Theoretical basis and experimental study of the Mn(II) complex with hexamethylpropylenaminoxim as a paramagnetic contrast agent for visualization of malignant tumors. *Diagnostic Radiology and Radiation Therapy*. 2019; (2 (10)): 42-49 [In Russ]. <http://doi.org/10.22328/2079-5343-2019-10-2-42-49>

27. Serebrennikov VV. Chemistry of rare earth elements (scandium, yttrium, lanthanides). Tomsk. TSU Publ. House. 1959; 531 [In Russ].

28. Batyreva VA, Kozik VV, Serebrennikov VV, Yakunina GM. Synthesis of compounds of rare earth elements. Tomsk. TSU Publ. House. 1983; 144 [In Russ].

29. Usov WYu, Belyanin ML, Bezlepkin AI et al. Evaluation of Manganese-trans-1,2-Diaminocyclohexane-N,N,N',N'-tetraacetate Complex (Cyclomang) as Paramagnetic Contrast Agent for Magnetic Resonance Imaging. *Ekspierimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya*. 2013; 76(10): 32–38 [In Russ].