

УДК 546.662+546.05

## НОВЫЕ МИНЕРАЛОПОДОБНЫЕ Gd- И В-СОДЕРЖАЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ НЕЙТРОН-ЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ

© 2020 г. Л. С. Алексеева<sup>1</sup>, \*, Д. А. Пушкова<sup>1</sup>, А. П. Горшков<sup>1</sup>, Д. О. Савиных<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, 603950 Россия

\*e-mail: golovkina\_lyudmila@mail.ru

Поступила в редакцию 27.12.2018 г.

После доработки 20.08.2019 г.

Принята к публикации 17.09.2019 г.

Методом соосаждения проведен синтез новых Gd- и В-содержащих соединений со структурами граната вида  $Y_{3-x}Gd_xAl_2(AlO_4)_3-0.01x(BO_4)_{0.01x}$  и перовскита вида  $Y_{1-x}Gd_x(AlO_3)_{1-0.01x}(BO_3)_{0.01x}$ , где  $x = 0.2-1.0$ . Полученные соединения исследованы методами РФА и ИК-спектроскопии. Выявлено образование непрерывного ряда твердых растворов с ожидаемой структурой граната. Добиться формирования соединений со структурой перовскита не удалось. Исследование цитотоксичности полученных соединений со структурой граната показало, что они не оказывают какого-либо значительного влияния на жизнеспособность клеток крови экспериментальных животных.

**Ключевые слова:** Gd- и В-содержащие соединения, гранат, перовскит, метод соосаждения, биосовместимость

**DOI:** 10.31857/S0002337X20020013

### ВВЕДЕНИЕ

Нейтрон-захватная терапия (НЗТ) — нетрадиционная лучевая терапия, которая объединяет низкоэнергетическое нейтронное облучение с присутствием поглощающего нейтроны вещества в раковых клетках [1, 2]. Два изотопа представляют большой интерес из-за их большого сечения захвата нейтронов: В-10 и Gd-157. В случае В-10 нерадиоактивный изотоп захватывает нейтроны и распадается на альфа-частицы и ядро лития, вызывающие необратимое повреждение клетки, в которой они находились [3]. В настоящее время, несмотря на клиническое применение В-содержащих препаратов и их эффективную и безопасную В-НЗТ [5–10], они демонстрируют низкую избирательность, и несколько исследовательских групп прилагают большие усилия для разработки новых более избирательных агентов доставки бора [11, 12].

Использование гадолиния в качестве агента для НЗТ становится все более привлекательным из-за его большого сечения захвата нейтронов (255000 бн для Gd-157), что примерно в 65 раз больше по сравнению с сечением захвата нейтронов бором-10 [12]. В результате захвата нейтрона изотопом Gd-157 образуется возбужденный атом гадолиния-158 (158Gd\*), который генерирует сложный переход внутри оболочки с большой длиной свободного пробега в тканях, электроны внутренней конверсии и, наконец, оже-электроны вместе с характерным рентгеновским излучением.

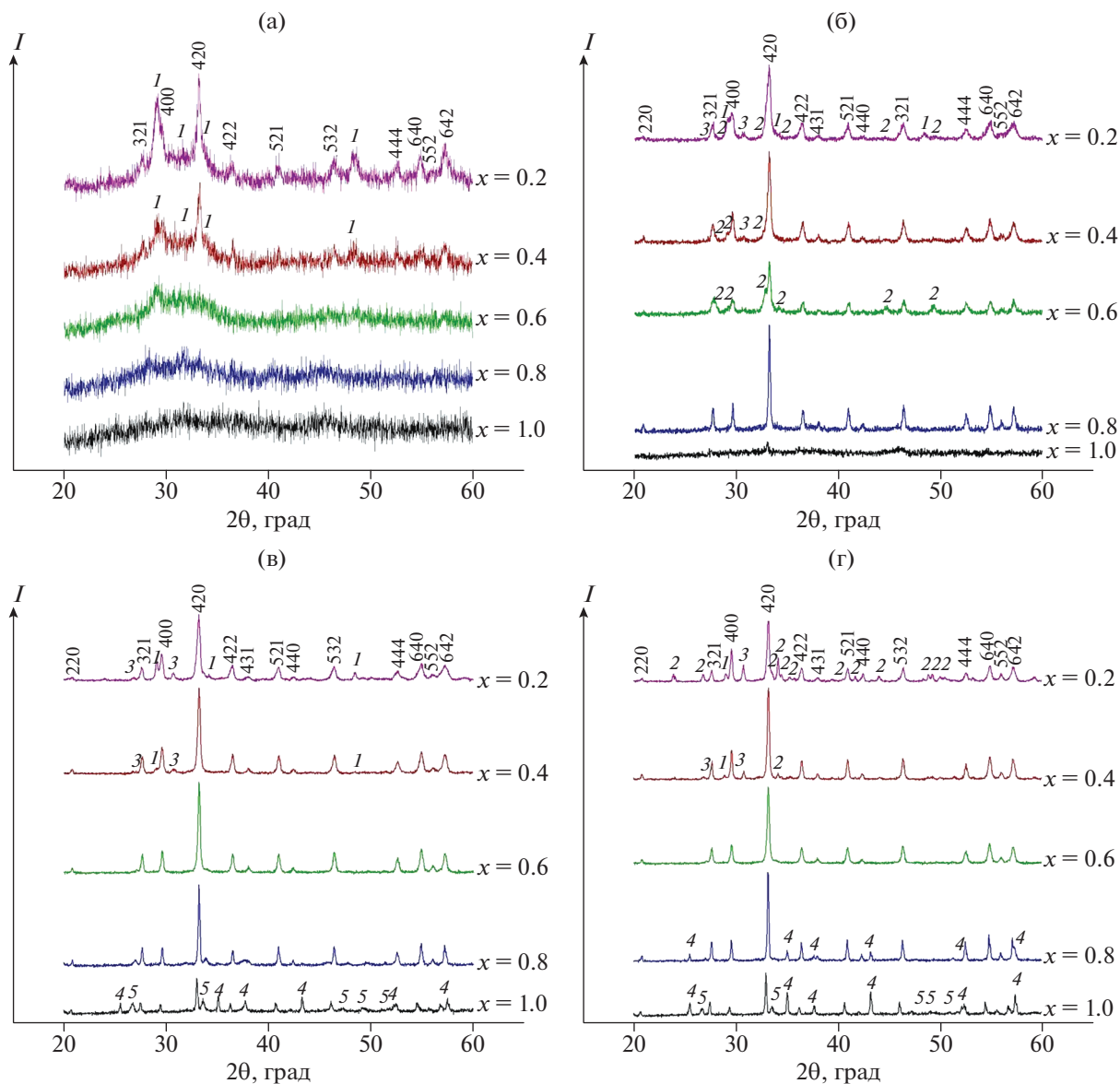
Хотя идея Gd-НЗТ была впервые сформулирована в 1980-х гг. [13, 14], остается проблема отсутствия подходящих Gd-содержащих агентов. Преимуществом является то, что несколько соединений на основе Gd обычно используются в клинической диагностике как контрастные агенты для МРТ, что делает их “идеальными” терапевтическими агентами, способными объединить НЗТ и МРТ-диагностику для улучшения персонализированного лечения пациента [15].

Принимая во внимание различные механизмы действия агентов в В- и Gd-НЗТ, довольно логично исследовать возможное преимущество объединения обоих методов.

Рассматриваются две возможные стратегии: одновременное использование двух агентов НЗТ, один из которых содержит В-10, а другой Gd-157; разработка одного агента НЗТ, содержащего как В-10, так и Gd-157. Однако в первом случае поглощение и распределение внутри опухоли могут быть различными для этих соединений. А использование соединений, содержащих одновременно В и Gd, может быть полезным для увеличения дозы облучения опухоли.

Для реализации выбранных подходов использовали кристаллический материал на основе природных минералов граната и перовскита.

Гранаты представляют собой группу минералов с общей формулой  $B_3^{2+}R_2^{3+}(XO_4)_3$ . Структура граната устойчива в весьма широком диапазоне катион-



**Рис. 1.** Дифрактограммы соединений ряда  $Y_{1-x}Gd_x(AlO_3)_{1-0.01x}(BO_3)_{0.01x}$  ( $x = 0.2-1.0$ ) после отжига при 700 (а), 900 (б), 1000 (в) и 1100°C (г): 1 –  $Y_2O_3$ , 2 –  $YAlO_3$ , 3 –  $Y_4Al_2O_9$ , 4 –  $Al_2O_3$ , 5 –  $GdBO_3$ .

ных замещений во всех кристаллографических позициях. Позиция катиона  $B^{2+}$  может быть занята катионами Mg, Fe, Mn, Ca, актиноидов и РЗЭ, позиция катиона  $R^{3+}$  – катионами Al, Fe, Cr, Ga, позиция X – катионами Al, Fe, Ga, Si [16–18].

Перовскиты относятся к классу сложных оксидов с общей химической формулой  $ABX_3$ . Важной характеристикой перовскитов является их способность к многочисленным изоморфным замещениям как в А-, так в В-позициях. В структуре перовскита может накапливаться большое количество разных типов элементов в различной валентности, что приводит к возможности химического дизайна данных материалов. Позиция А может быть занята катионами щелочных, щелоч-

ноземельных и редкоземельных металлов; позиция В – катионами Cu, Co, Cr, Ni, Mn, Al, Fe, Ru, Ti, Nb, Ta, X – анионами Н, ОН, О, F, Cl [19–21].

Целью настоящей работы являлось получение соединений, содержащих в своем составе одновременно Gd и В, со структурами граната и перовскита и изучение их биосовместимости.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образцы соединений со структурами граната вида  $Y_{3-x}Gd_xAl_2(AlO_4)_{3-0.01x}(BO_4)_{0.01x}$  ( $x = 0.2-1.0$ ) и перовскита вида  $Y_{1-x}Gd_x(AlO_3)_{1-0.01x}(BO_3)_{0.01x}$  ( $x = 0.2-1.0$ ) синтезировали в виде поликристаллических порошков методом соосаждения

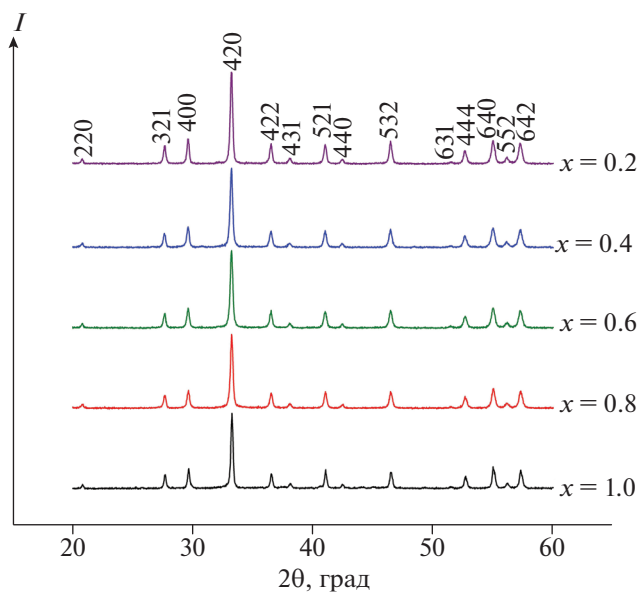


Рис. 2. Дифрактограммы соединений ряда  $Y_{3-x}Gd_xAl_2(AlO_4)_3-0.01x(BO_4)_{0.01x}$ .

(золь–гель-процесс). Водные растворы исходных реагентов: нитраты солей ( $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ ,  $Y(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ ,  $Gd(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ ), борную кислоту  $H_3BO_3$  смешивали с гидроксидом аммония  $NH_4OH$  (5%-ный водный раствор). Получали гель, который нагревали при температуре  $90^\circ C$  в течение суток для удаления воды. Сухой остаток последовательно нагревали при температурах  $300^\circ C$  в течение 3 ч,  $700$ ,  $900$ ,  $1000$ ,  $1100^\circ C$  в течение 8 ч на каждой стадии.

Фазообразование изучали методом рентгенофазового анализа. Для записи дифрактограмм использовали установку Shimadzu LabX XRD-6000:  $CuK_\alpha$ -излучение,  $\lambda = 1.54078 \text{ \AA}$ .

ИК-спектры поглощения образцов в виде тонких пленок на подложке КВг записывали в диапазоне  $1300-400 \text{ см}^{-1}$  на Фурье-спектрофотометре DIGILAB FTS 7000.

Размер частиц определяли на растровом электронном микроскопе JEOL JSM-6495 с EDS-микроанализатором Oxford Instruments INCA 350. Анализ проводили при комнатной температуре.

Исследование цитотоксичности синтезированных частиц проводили методом проточной цитометрии с использованием цельной крови мышей линии C57BL/6 в возрасте 5–6 нед. Для этого кровь гепаринизировали, а затем инкубировали с полученными составами для НЗТ в разных разведениях ( $37^\circ C$ , 60 мин). От эритроцитов избавлялись с помощью лизирующего буфера RBC Lysis Buffer (Cat#420301, Biolegend, США), клетки разводили в буфере для окрашивания (2% BSA в фосфатно-солевом буфере) и инкубировали в растворе, содержащем йодид пропидия (1 мкг/мл,  $37^\circ C$ , 5 мин). Анализ клеточной суспензии проводили с

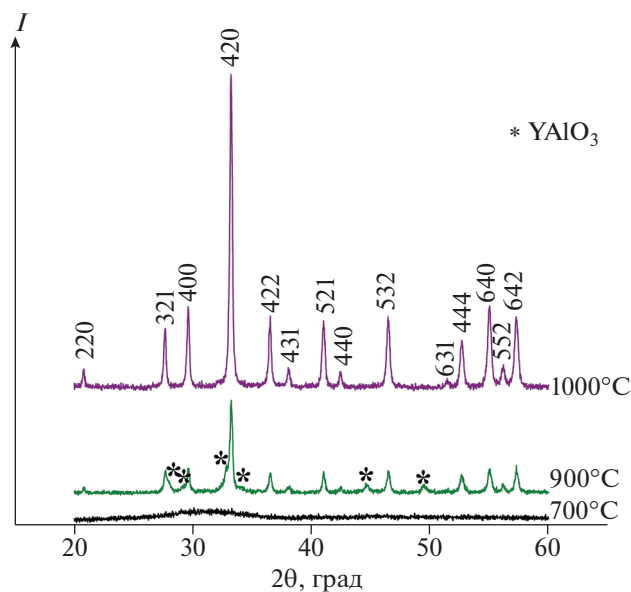


Рис. 3. Дифрактограммы соединения  $Y_{2.4}Gd_{0.6}Al_2(AlO_4)_2.994(BO_4)_{0.006}$  после нагревания при разных температурах.

помощью проточного цитометра Cytoflex S (Beckman Coulter, США), детекцию флуоресценции йодида пропидия проводили с использованием светофильтра 690/50 нм.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе эксперимента не удалось получить соединения со структурой перовскита ряда  $Y_{1-x}Gd_x(AlO_3)_{1-0.01x}(BO_3)_{0.01x}$  ( $x = 0.2-1.0$ ). После

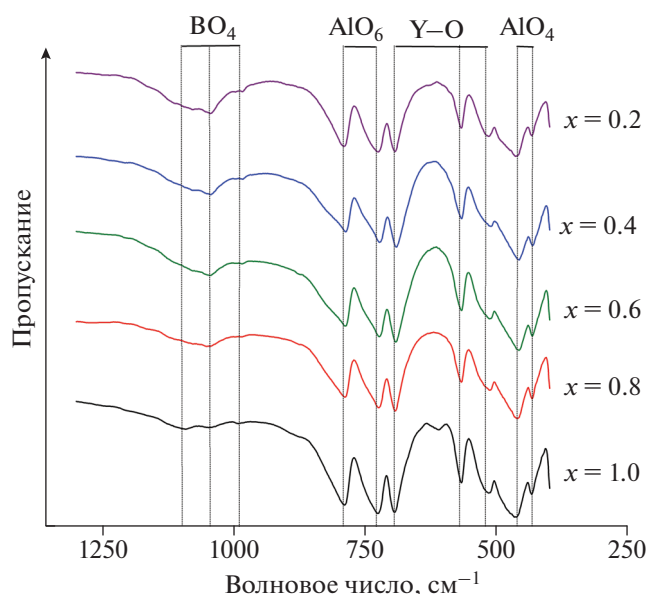


Рис. 4. ИК-спектры соединений ряда  $Y_{3-x}Gd_xAl_2(AlO_4)_3-0.01x(BO_4)_{0.01x}$ .

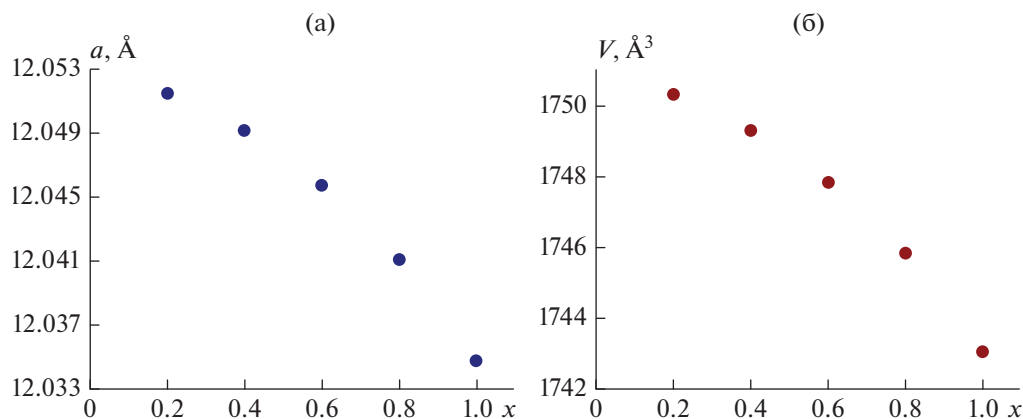


Рис. 5. Зависимости параметра  $a$  (а) и объема  $V$  (б) элементарной ячейки от состава соединений ряда  $Y_{3-x}Gd_xAl_2(AlO_4)_3-0.01x(BO_4)_{0.01x}$ .

отжига при  $700^\circ\text{C}$  (рис. 1а) наблюдалось формирование фазы, изоструктурной фазе граната состава  $Y_3Al_5O_{12}$  (ICDD DataBase № 08-0178), и фазы, изоструктурной фазе оксида иттрия  $Y_2O_3$  (ICDD DataBase № 05-0574), для  $x = 0.2$  и  $0.4$ . Остальные образцы были рентгеноаморфными. Увеличение температуры отжига до  $900^\circ\text{C}$  привело к увеличению кристалличности фазы граната (кроме образца с  $x = 1$ , где только начиналось ее формирование) (рис. 1б). Кроме того, наблюдались рефлексы примесных фаз: оксида иттрия  $Y_2O_3$  ( $x = 0.2$ ), сложного иттрий-алюминиевого оксида  $Y_4Al_2O_9$  (ICDD DataBase № 14-0475) (для  $x = 0.2$  и  $0.4$ ) и гексагональной модификации перовскита  $YAlO_3$  (ICDD DataBase № 16-0219) (для  $x = 0.2, 0.4$  и  $0.6$ ). Увеличение температуры отжига до  $1000^\circ\text{C}$  привело к исчезновению фазы перовскита (рис. 1в). Образец с  $x = 1$  представлял собой фазу, изоструктурную фазе граната  $Y_3Al_5O_{12}$ , с примесью  $Al_2O_3$  (ICDD DataBase № 11-0661) и бората гадолиния  $GdBO_3$  (ICDD DataBase № 74-1932). Увеличение температуры отжига до  $1100^\circ\text{C}$  не привело к существенному изменению фазовых составов образцов с  $x = 0.4, 0.6$  и  $1$  (рис. 1г). В образце с  $x = 0.8$  наблюдалось появление примеси  $Al_2O_3$ , а в образце с  $x = 0.2$  происходило образование орторомбической модификации перовскита  $YAlO_3$  (ICDD DataBase № 70-1677). Следует отметить, что дифракционные максимумы фазы граната при увеличении  $x$  смещаются в сторону меньших углов, что, по-видимому, связано с включением гадолиния в кристаллическую решетку граната.

Полученные образцы граната ряда  $Y_{3-x}Gd_xAl_2(AlO_4)_3-0.01x(BO_4)_{0.01x}$  ( $x = 0.2-1.0$ ) представляли собой поликристаллические порошки белого цвета. По данным РФА (рис. 2), они являлись однофазными и кристаллизовались в ожидаемой структуре граната (пр. гр.  $Ia3d$ , ICDD DataBase № 79-1891). Установлено, что образование однофазного продукта происходит при  $1000^\circ\text{C}$  (рис. 3), однако уже при  $900^\circ\text{C}$  наблюда-

ются соответствующие пики совместно с пиками перовскита  $YAlO_3$  (ICDD DataBase № 74-1334).

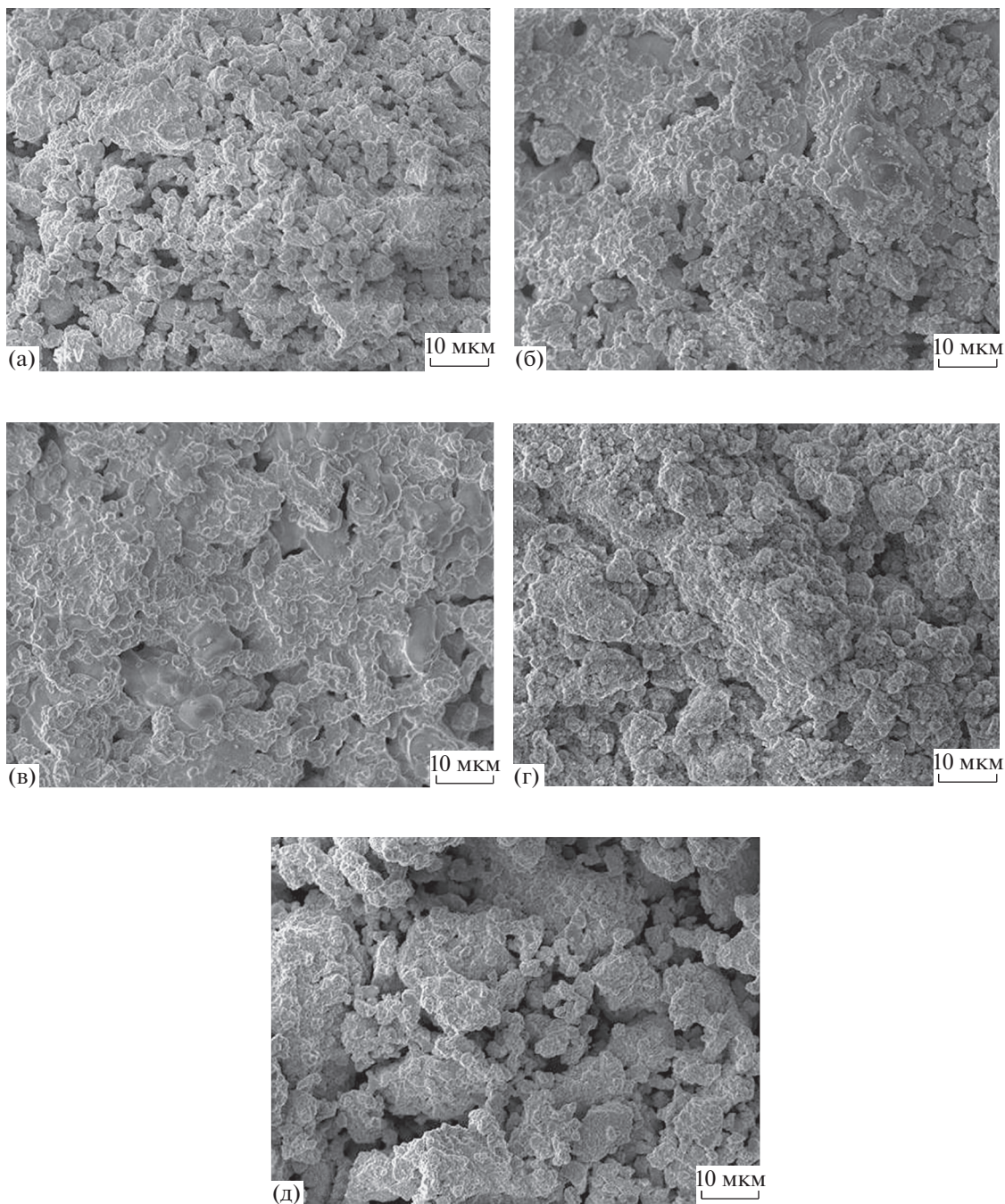
На рис. 4 представлены ИК-спектры изучаемых образцов. Полосы поглощения  $430$  и  $460\text{ см}^{-1}$  отнесены к валентным колебаниям тетраэдра  $[AlO_4]$ , а  $720$  и  $790\text{ см}^{-1}$  — к валентным колебаниям октаэдра  $[AlO_6]$ . Полосы поглощения  $510, 570$  и  $690\text{ см}^{-1}$  связаны с колебаниями связи  $Y-O$ . Полосы поглощения  $980, 1040$  и  $1080\text{ см}^{-1}$  соответствуют колебаниям связи  $B-O$  в тетраэдрах  $[BO_4]$ .

Из анализа данных РФА и ИК-спектроскопии следует, что бор занимает позицию X в кристаллической решетке граната и образует тетраэдры  $[BO_4]$ .

Графики, иллюстрирующие изменение параметра  $a$  и объема  $V$  элементарной ячейки исследуемых соединений, приведены на рис. 5. Установлено, что с увеличением содержания гадолиния и бора наблюдается уменьшение параметра  $a$  и объема  $V$  элементарной ячейки, что свидетельствует о существовании непрерывного ряда твердых растворов состава  $Y_{3-x}Gd_xAl_2(AlO_4)_3-0.01x(BO_4)_{0.01x}$  при  $x = 0.2-1.0$ .

Частицы исследуемых соединений со структурой граната представляли собой легкоразрушаемые агломераты (рис. 6). Минимальный размер частиц был примерно одинаковым для всех соединений и составил  $\sim 316-334\text{ нм}$ . Максимальный размер частиц составил  $33-39\text{ мкм}$ .

Поскольку процедура НЗТ подразумевает взаимодействие терапевтических агентов с кровью пациентов, на начальном этапе исследования изучили цитотоксический эффект полученных соединений в отношении клеток крови: нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов. Процент мертвых нейтрофилов составил  $9.90-17.73\%$  ( $10.13\%$  — в контрольном опыте), лимфоцитов —  $0.51-2.18\%$  ( $0.51\%$  — в контрольном опыте), моноцитов —  $0.31-2.86\%$  ( $2.86\%$  — в контрольном опыте). Полученные результаты о биосовместимости исследу-



**Рис. 6.** Микрофотографии порошков соединений ряда  $Y_{3-x}Gd_xAl_2(AlO_4)_3-0.01x(BO_4)_{0.01x}$  с  $x = 0.2$  (а), 0.4 (б), 0.6 (в), 0.8 (г), 1.0 (д).

дуремых соединений свидетельствуют о том, что полученные частицы не оказывают какого-либо значительного влияния на жизнеспособность клеток крови экспериментальных животных в диапазоне концентраций от 0.0001 до 1 мг/мл. И даже после инкубации в самой большой концентрации (1 мг/мл) не наблюдалось каких-либо изменений в степени окрашивания клеток йодидом пропидия.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены новые Gd- и В-содержащие соединения со структурой граната вида  $Y_{3-x}Gd_xAl_2(AlO_4)_3-0.01x(BO_4)_{0.01x}$  ( $x = 0.2-1.0$ ). Установлено, что образование однофазного продукта происходит при 1000°C. Методом ИК-спектрометрии установлено, что бор входит в позицию X кристаллической решетки граната и образует тетра-

эдры [VO<sub>4</sub>]. Непрерывное изменение параметров элементарных ячеек свидетельствует о существовании непрерывного ряда твердых растворов состава Y<sub>3-x</sub>Gd<sub>x</sub>Al<sub>2</sub>(AlO<sub>4</sub>)<sub>3-0.01x</sub>(VO<sub>4</sub>)<sub>0.01x</sub> при x = 0.2–1.0. Полученные соединения для НЗТ не являются токсичными в отношении клеток крови – жизнеспособность клеток после взаимодействия с ними была сопоставима с контрольными значениями.

### БЛАГОДАРНОСТЬ

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 18-33-00880).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hawthorne M.F., Lee M. A Critical Assessment of Boron Target Compounds for Boron Neutron Capture Therapy // *J. Neurooncol.* 2003. V. 62. I. 1–2. P. 33. <https://doi.org/10.1023/A:1023253309343>
2. Hosmane N.S., Maguire J.A., Zhu Y., Takagaki M. Principles of Neutron Capture Therapy // *Boron and Gadolinium Neutron Capture Therapy for Cancer Treatment.* Singapore: World Scientific Publishing Company, 2012. P. 35. [https://doi.org/10.1142/9789814338684\\_0003](https://doi.org/10.1142/9789814338684_0003)
3. Barth R.F., Coderre J.A., Vicente M.G.H., Blue T.E. Boron Neutron Capture Therapy of Cancer: Current Status and Future Prospects // *Clin. Cancer Res.* 2005. V. 11. № 11. P. 3987. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-0035>
4. Kageji T., Nagahiro S., Mizobuchi Y. et al. Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) for Newly Diagnosed Glioblastoma: Comparison of Clinical Results Obtained with BNCT and Conventional Treatment // *J. Med. Invest.* 2014. V. 61. № 3–4. P. 254. <https://doi.org/10.2152/jmi.61.254>
5. van Rij C.M., Wilhelm A.J., Sauerwein W.A., van Loenen A.C. Boron Neutron Capture Therapy for Glioblastoma Multiforme // *Pharm. World Sci.* 2005. V. 27. № 2. P. 92. <https://doi.org/10.2217/fon.12.118>
6. Liu Y.W., Chang C.T., Yeh L.Y. et al. BNCT Treatment Planning for Superficial and Deep-Seated Tumors: Experience from Clinical Trial of Recurrent Head and Neck Cancer at THOR // *Appl. Radiat. Isot.* 2015. V. 106. P. 121. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2015.08.002>
7. Aihara T., Morita N., Kamitani N. et al. BNCT for Advanced or Recurrent Head and Neck Cancer // *Appl. Radiat. Isot.* 2014. V. 88. P. 12. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2014.04.007>
8. Menéndez P.R., Roth B.M., Pereira M.D. et al. BNCT for Skin Melanoma in Extremities: Updated Argentine Clinical Results // *Appl. Radiat. Isot.* 2009. V. 67. P. S50. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2009.03.020>
9. Zonta A., Prati U., Roveda L. et al. Clinical Lessons from the First Applications of BNCT on Unresectable Liver Metastases // *J. Phys. Conf. Ser.* 2006. V. 41. P. 484. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/41/1/054>
10. Barth R.F., Vicente M.G., Harling O.K. et al. Current Status of Boron Neutron Capture Therapy of High Grade Gliomas and Recurrent Head and Neck Cancer // *Radiat. Oncol.* 2012. V. 7. P. 146. <https://doi.org/10.1186/1748-717X-7-146>
11. Luderer M.J., de la Puente P., Azab A.K. Advancements in Tumor Targeting Strategies for Boron Neutron Capture Therapy // *Pharm. Res.* 2015. V. 32. № 9. P. 2824. <https://doi.org/10.1007/s11095-015-1718-y>
12. Salt C., Lennox A.J., Takagaki M. et al. Boron and Gadolinium Neutron Capture Therapy // *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* 2004. V. 53. P. 1871. <https://doi.org/10.1007/s11172-005-0045-6>
13. Brugger R.M., Shih J.A. Evaluation of Gadolinium-157 as a Neutron Capture Therapy Agent // *Strahlenther. Onkol.* 1989. V. 165. № 2–3. P. 153.
14. De Stasio G., Casalbore P., Pallini R. et al. Gadolinium in Human Glioblastoma Cells for Gadolinium Neutron Capture Therapy // *Cancer Res.* 2001. V. 61. № 10. P. 4272.
15. Shih J.L.A., Brugger R.M. Gadolinium as a Neutron Capture Therapy Agent // *Med. Phys.* 1992. V. 19. № 3. P. 733. <https://doi.org/10.1118/1.596817>
16. Golovkina L.S., Orlova A.I., Nokhrin A.V. et al. Ceramics Based on Yttrium Aluminum Garnet Containing Nd and Sm Obtained by Spark Plasma Sintering // *Ad. Ceram. Sci. Eng. (ACSE).* 2013. V. 2. № 4. P. 161–165.
17. Potanina E., Golovkina L., Orlova A. et al. Lanthanide (Nd, Gd) Compounds with Garnet and Monazite Structures. Powders Synthesis by “Wet” Chemistry to Sintering Ceramics by Spark Plasma Sintering // *J. Nucl. Mater.* 2016. V. 473. P. 93. <https://doi.org/10.1016/j.jnucmat.2016.02.014>
18. Лаверов Н.П., Величкин В.И., Омеляненко Б.И. и др. Изменение окружающей среды и климата: природные и связанные с ними техногенные катастрофы. Т. 5: Изоляция отработавших ядерных материалов: геолого-геохимические основы. М.: ИГЕМ РАН, 2008. 256 с.
19. Pena M.A., Fierro J.L.G. Chemical Structures and Performance of Perovskite Oxides // *Chem. Rev.* 2001. V. 101. P. 1981–2018. <https://doi.org/10.1021/cr980129f>
20. Davies R.A., Islam M.S., Chadwick A.V., Rush G.E. Cation Dopant Sites in the CaZrO<sub>3</sub> Proton Conductor: a Combined EXAFS and Computer Simulation Study // *Solid State Ionics.* 2000. V. 130. № 2. P. 115. [https://doi.org/10.1016/S0167-2738\(00\)00573-7](https://doi.org/10.1016/S0167-2738(00)00573-7)
21. Davies R.A., Islam M.S., Gale J.D. Dopant and Proton Incorporation in Perovskite-Type Zirconates // *Solid State Ionics.* 1999. V. 126. № 4. P. 323. [https://doi.org/10.1016/S0167-2738\(99\)00244-1](https://doi.org/10.1016/S0167-2738(99)00244-1)