

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БОРСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ С КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНОЙ

С.В. Демидов¹, Э.Б. Душанов^{1,2}, Я.К.Д. Родригез³, С.В. Аксёнова²

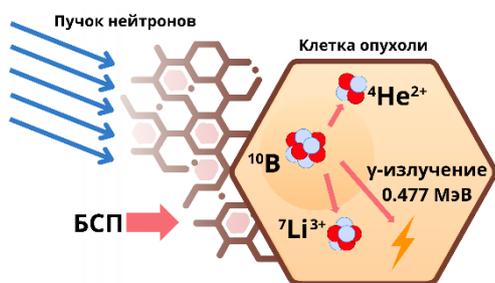
¹Государственный университет «Дубна», г. Дубна (ФЕИН, кафедра биофизики)

²Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна

³Центр передовых исследований Кубы, г. Гавана, Куба

Введение. Одним из перспективных методов лечения онкологических заболеваний является бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ), в основе которой лежит введение борсодержащих препаратов в ткани опухоли с последующим облучением тепловыми нейтронами. В результате облучения нейтроном изотоп ^{10}B распадается на ^7Li и α -частицу, при этом α -частица имеет короткий пробег и преимущественно воздействует на ткани опухолевой клетки, минимально повреждая нормальные дистальные ткани. На сегодняшний день клинические исследования БНЗТ проводились при различных видах и локализациях злокачественных новообразований, включая мультиформную глиобластому, менингиому, рак головы и шеи, рак легких, рак молочной железы, гепатоцеллюлярную карциному, саркомы, кожные злокачественные новообразования, экстрамаммарную болезнь Педжета, рецидивирующие виды рака, детский рак и метастатическое заболевание [1].

Лечение с помощью БНЗТ основано на захвате нейтрона изотопом ^{10}B при облучении тепловыми нейтронами ($E \leq 10,0$ эВ) и последующем делении изотопа:



реакции: $^{10}\text{B}_5 + ^1_0\text{n} \rightarrow ^{11}\text{B} \rightarrow ^4_2\text{He} (1,47 \text{ МэВ}) + ^7_3\text{Li} (0,84 \text{ МэВ}) + \gamma (0,48 \text{ МэВ})$. Альфа-частицы обладают высокой линейной передачей энергии (ЛПЭ) и теряют свою энергию на расстоянии до 10 мкм, что приблизительно равно диаметру одной клетки (Рис. 1) [1].

В клинической практике при БНЗТ используются два типа борсодержащих препарата: борфенилаланин ($\text{C}_9\text{H}_{12}\text{BNO}_4$ или ВРА) и борокапнат натрия ($(\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH})$ или BSH). Оба соединения характеризуются низкой токсичностью, селективным поглощением опухолевыми клетками, длительной персистенцией опухоли и безопасностью после их внутривенного введения [2]. Структура 4-бороно-L-фенилаланин одобрена в качестве борсодержащего препарата при лечении рака головы и шеи. Рак головы и шеи, по-види-

Рис. 1. Схема применения борсодержащих препаратов (БСП) в лечении онкологических заболеваний

мому, является подходящей мишенью при БНЗТ, поскольку уровни экспрессии транспортера аминокислот L-типа 1 (LAT1), одного из транспортеров аминокислот, ответственных за поглощение ВРА, повышены в большинстве случаев этого типа рака. Однако при других видах рака, включая злокачественные опухоли мозга, LAT1 не всегда достигает высокого уровня экспрессии [3]. Кроме того, гидрофобная структура фенилаланина и нейтральный заряд при физиологическом pH приводят к образованию межмолекулярных солей, которые трудно растворить. В начале клинического применения ВРА для преодоления этого аспекта использовался раствор ВРА-гидрохлорида при низком pH. Поскольку его высокая степень гидрофобности означает, что он почти никогда не растворяется в воде в нейтральных условиях, его объединяют с водорастворимым веществом, таким как D-фруктоза, для образования водорастворимого комплекса, который затем используется в качестве борного агента [4].

Борокапнат натрия, являясь ионной молекулой, хорошо растворяется в воде и содержит в своей структуре 12 атомов бора, благодаря чему демонстрирует высокую способность к поглощению нейтронов. Способность борокапната натрия проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), проницаемость которого снижается при злокачественных новообразованиях, была причиной его первоначального применения в лечении опухолей головного мозга. Однако, борокапнат натрия обладает низкой селективностью к опухолям и не склонен накапливаться внутри клеток, проявляя тенденцию к распределению вблизи опухолевой ткани.

Исходя из анализа важно отметить возможную эффективность комбинированных подходов в БНЗТ с использованием соответствующих преимуществ ВРА и BSH [4].

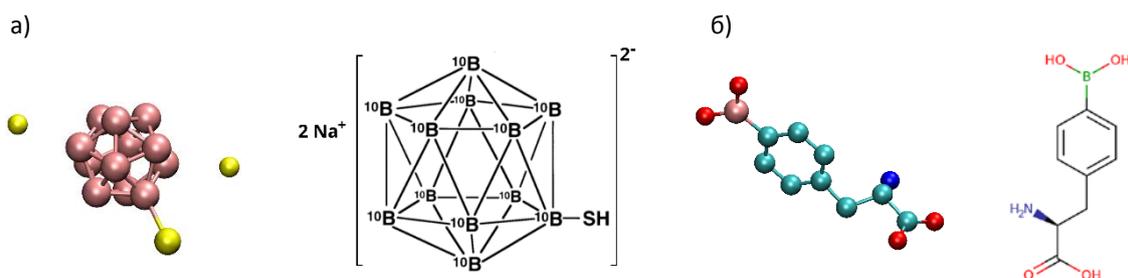


Рис. 2. Молекулярная структура: а) борокаптата натрия; б) борфенилаланина.

Материалы и методы. Целью настоящей работы являлось исследование взаимодействия борсодержащих соединений с липидной мембраной клетки.

Кристаллические структуры борсодержащих молекул определены в базе данных RCSB PDB (<https://www.rcsb.org>). Структура борфенилаланина выделена из последовательности 4-бороно-L-фенилаланин тРНК-синтетазы в комплексе с 4-бороно-L-фенилаланином и аденозинмонофосфатом (5N5U, лиганд 7N8). Структура борокаптата натрия извлечена из последовательности лизоцима куриного яйца с микроэлементом бора UTX-97 (5B5J, лиганд UTX). Молекула борокаптата натрия параметризована общим потенциальным полем Amber (GAFF) с помощью программы асуре [5], топология была построена с помощью AmberTools [6].

Построение молекулярной системы POPC/БСП/вода и генерация необходимых файлов для топологии выполнено в среде Charmm-GUI [7]. При этом число молекул ВРА составило 24, а молекул BSH – 10. Молекулярно-динамическое моделирование в течение 100 нс при температуре 30°C проводилось в среде GROMACS версии 2022.4 [8] с 242 молекулами POPC и 12100 молекулами воды (Рис.3). Для визуализации состояний молекулярной системы на различных этапах молекулярно-динамического моделирования применялся программный пакет VMD [9].

Результаты. В ходе моделирования отмечалось активное взаимодействие БСП обоих типов с головной группой липидного бислоя и незначительное проникновение борсодержащих соединений в структуру клеточной мембраны (Рис. 3).

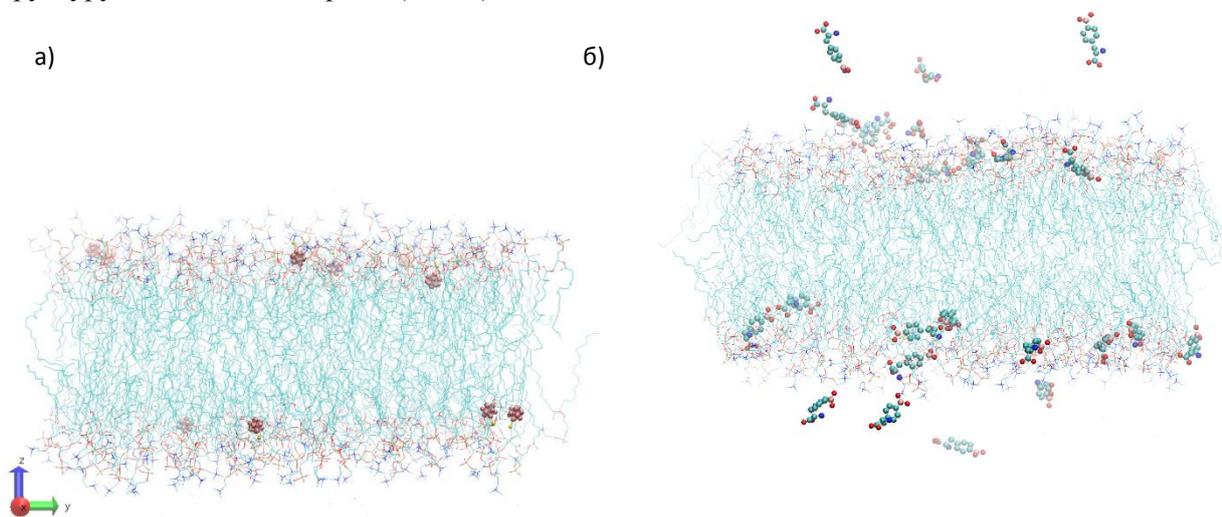


Рис. 3. Графическое представление мембранной системы в комплексе: а) с BSH; б) с ВРА после 100 нс моделирования методом молекулярной динамики.

Фундаментальными параметрами анализа структурно-функциональных взаимосвязей являются площадь, приходящая на одну молекулу липида (APL) и толщина липидного бислоя, которые отражают структурные особенности бислоя и зависят от множества факторов, включающих степень гидратации липида, ионную силу раствора, фазовое состояние и давление. В нашем исследовании параметры толщины и площади рассчитывались (Таблица 1) с помощью пакета GridMAT-MD [10]. Наши расчётные значения параметров согласуются с экспериментальными данными, полученными методом рентгеновского рассеяния для структуры с мембраной POPC [11], где эти значения при 30°C составляли 39,1 Å и 64,3 Å², соответственно.

Таблица 1. Параметры толщины бислоя и APL моделированных структур.

Параметры	POPC	POPC/BPA	POPC/BSH
Толщина бислоя, нм	$3,98 \pm 0,31$	$3,88 \pm 0,30$	$4,01 \pm 0,29$
APL, нм ²	$0,64 \pm 0,11$	$0,66 \pm 0,11$	$0,65 \pm 0,11$

По данным ранее проведенных экспериментальных исследований [12], концентрация n введенного препарата борокаптата натрия на поверхности опухолевой клетки в среднем составляет 2,0 мг/г, что соответствует около 25 молекул BSH для нашей структуры. Поскольку концентрация меньше порогового числа ($n = 10 < 25$), все молекулы BSH связываются с поверхностью мембраны (Рис. 4), и в течение времени моделирования стабилизируются в области головной группы. Пороговое число молекул BPA на поверхности мембраны при 50 нс моделирования составило 15, а при 100 нс – 10 (Рис. 4б).

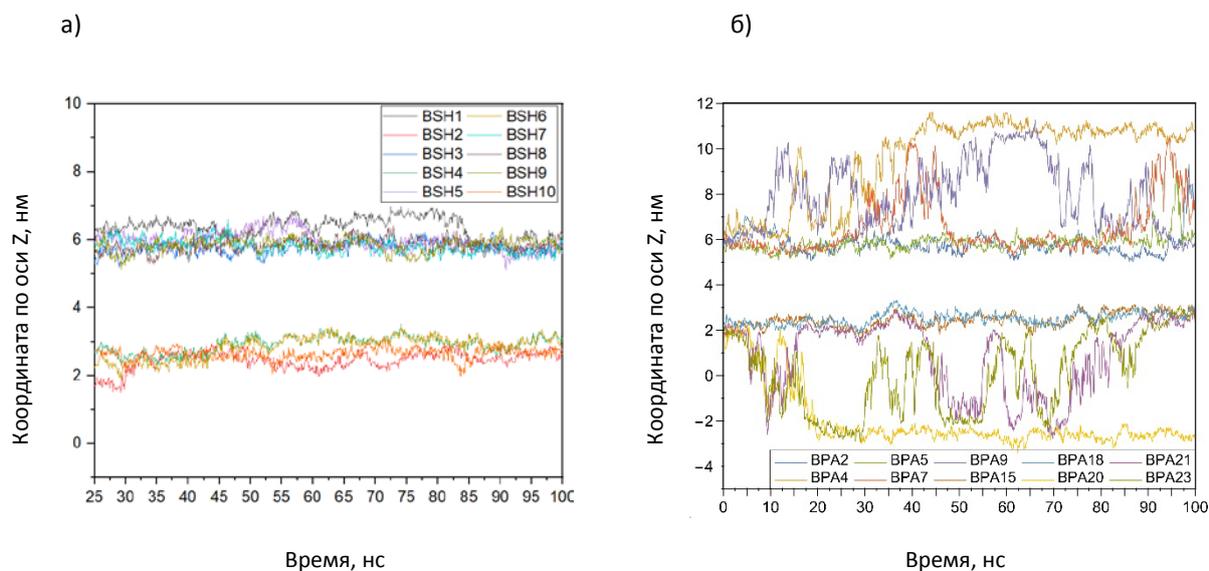


Рис. 4. Координаты борсодержащих соединений: а) BSH (начиная с 25 нс), б) BPA

Профиль плотности характеризует распределение массы, электронной плотности, заряда, длины рассеяния и других параметров вдоль оси, перпендикулярной плоскости бислоя. Особую ценность этим данным придает возможность их экспериментального определения и сопоставления с результатами молекулярно-динамического моделирования. В настоящей работе основное внимание уделено анализу распределения вероятности массовой плотности. Плотность мембраны характеризуется ее поперечной структурой и зависит от липидного состава. Наши данные не противоречат экспериментальным данным по расчету распределения вероятности объема [11]. Анализ параметра плотности показывает, что структура мембраны зависит от концентрации БСП на её поверхности (Рис. 5).

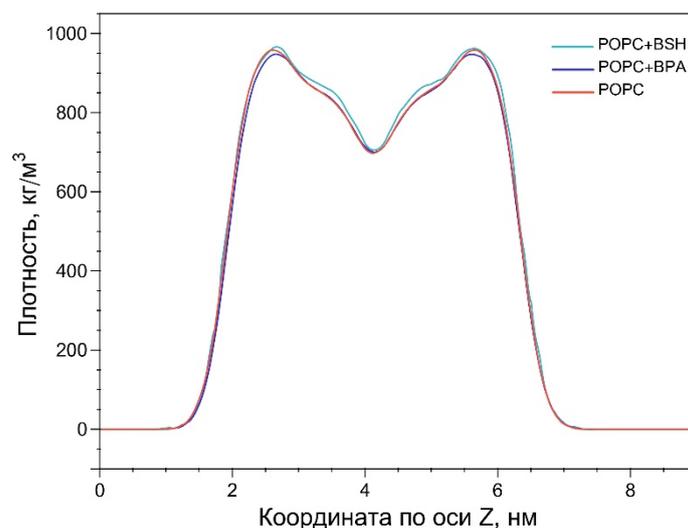


Рис. 5. Профиль плотности мембраны в молекулярной системе, содержащей БСП

Заключение. Настоящая работа была направлена на изучение модели липидного бислоя РОРС при его взаимодействии с борсодержащими препаратами в контексте бор-нейтронозахватной терапии. В ходе исследования было проанализировано взаимодействие с клеточной мембраной двух типов борсодержащих наночастиц (ВРА и BSH), которые широко применяются в бор-нейтронозахватной терапии.

Детальный анализ структурных особенностей бислоя РОРС при взаимодействии с лигандами ВРА и BSH на основе метода молекулярной динамики показал изменения структурных параметров в зависимости от концентрации БСП на поверхности мембраны. Полученные оценки пороговых значений концентраций на поверхности клеточной мембраны не противоречат экспериментальным данным. Результаты демонстрируют сохранение структурной целостности мембраны при контакте с изучаемыми соединениями. Установлено, что данные лиганды способны спонтанно связываться с поверхностными компонентами мембраны, включая глицериновый фрагмент, холиновую группу и фосфатные остатки.

Анализ полученных результатов показал, что часть молекул борфенилаланина (50%) теряет связь с мембраной клетки. Таким образом, концентрация молекул борфенилаланина на поверхности клетки, возможно, будет не достаточной для эффективной БНЗТ в сравнении с концентрацией борокаптата натрия (2 мг/г).

Литература

1. Malouff T.D., Seneviratne D.S., Ebner D.K., и др. Boron Neutron Capture Therapy: A Review of Clinical Applications // *Frontiers in Oncology*. 2021. Vol. 11. DOI: 10.3389/fonc.2021.601820.
2. Porcari P., Capuani S. and Pastore F.S. Novel Pharmacological and Magnetic Resonance Strategies to Enhance Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) Efficacy in the Clinical Treatment of Malignant Glioma // *Management of CNS Tumors*. 2011. Т. 11. С. 267-284. DOI: 10.5772/24756.
3. Fujimura A., Yasui S., Igawa K., Ueda A., Watanabe K., Hanafusa T., Ichikawa Y., и др. In Vitro Studies to Define the Cell-Surface and Intracellular Targets of Polyarginine-Conjugated Sodium Borocaptate as a Potential Delivery Agent for Boron Neutron Capture Therapy // *Cells*. 2020. Т. 9. № 10. DOI: 10.3390/cells9102149.
4. Hughes A.M., Hu N. Optimizing Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) to Treat Cancer: An Updated Review on the Latest Developments on Boron Compounds and Strategies // *Cancers*. 2023. Т. 15. № 16. С. 4091. DOI: 10.3390/cancers15164091.
5. Souse da Silva A.W., Vranken W.F. ACPYPE – Antechamber Python Parser Interface // *BMC Research Notes*, 5 (2012), 367. DOI: 10.1186/1756-0500-5-367
6. Wang J., Wang W., Kollman P.A., Casa D.A. Automatic Atom Type and Bond Type Perception in Molecular Mechanical Calculations // *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 25, 2(2006), 247-260. DOI: 10.1016/j.jmgm.2005.12.005
7. Kern N.R., Lee J., Choi Y.K., и др. CHARMM-GUI Multicomponent Assembler for Modeling and Simulation of Complex Multicomponent Systems // *bioRxiv: The Preprint Server for Biology*. 2023. DOI: 10.1101/2023.08.30.555590.
8. Lemkul J.A. Introductory Tutorials for Simulating Protein Dynamics with GROMACS // *The Journal of Physical Chemistry. B*. 2024. Т. 128. № 39 128. С. 9418–9435. DOI: 10.1021/acs.jpcc.4c04901.
9. Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD: visual molecular dynamics // *Journal of molecular graphics*. 1996. Т. 14. № 1. С. 33-38.
10. Allen W.J., Lemkul J.A., Bevan D.R. GridMAT-MD: A Grid-based Membrane Analysis Tool for Use with Molecular Dynamics // *J. Comput. Chem.*, 2009, 30 (12), 1952-1958.
11. Kučerka N., Nieh M.-P., Katsaras J. Fluid phase lipid areas and bilayer thicknesses of commonly used phosphatidylcholines as a function of temperature // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 2011, v. 1808, No 11, pp. 2761-2771. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.07.022>.
12. Kraft S.L., Gavin P.R., DeHaan C.E., Leathers C.W., Bauer W.F., Miller D.L., Dorn R.V. 3rd. Borocaptate sodium: a potential boron delivery compound for boron neutron capture therapy evaluated in dogs with spontaneous intracranial tumors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992, 89(24):11973-7. DOI: 10.1073/pnas.89.24.11973.