



Токсикологическая оценка *in vitro* карборанилсодержащих соединений - потенциальных препаратов для борнейтронзахватной терапии рака

Анисович М.В., Васильева М.М., Камлюк С.Н.

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», г. Минск

В настоящее время в мире на стадии клинических исследований находится перспективный метод бор-нейтронзахватной терапии (БНЗТ). БНЗТ представляет собой бинарный способ лечения рака, при котором взаимодействие двух практически безвредных для организма компонентов приводит к образованию высокотоксичных продуктов, поражающих раковую клетку. Метод основан на селективном накоплении атомов нерадиоактивного изотопа  $^{10}\text{B}$  в раковых клетках и последующим их облучении потоком эпитепловых нейтронов. При облучении происходит взаимодействие стабильного изотопа бора ( $^{10}\text{B}$ ) с тепловым нейтроном в результате, которой выделяется большое количество энергии в клетке, что приводит к ее гибели.

Однако для успешной реализации уникальных возможностей БНЗТ в клинической практике необходимо решение целого комплекса сложных химических, биологических, медицинских и физико-технических проблем [5]. Пути синтеза и изыскания препаратов для БНЗТ в большой мере определяются требованиями, предъявляемыми к таким препаратам. Препараты для БНЗТ должны: достаточно хорошо растворяться в воде, быть нетоксичными, иметь высокую биологическую и химическую устойчивость, обладать большой избирательностью при распределении в организме и особенно между опухолью и нормальной тканью, содержать максимальное количество бора в молекуле препарата в процентном отношении к другим элементам

**Цель** - провести исследования цитотоксических и мутагенных свойств вновьсинтезированных карборанилсодержащих гетероциклических соединений.

**Материалы и методы:**

Экспериментальная оценка цитотоксических свойств вновьсинтезированных соединений на культурах клеток (перевиваемые клеточные линии, первичные культуры) проводилась по показателям метаболической активности клеток (МТТ-тест), жизнеспособности и уровня активных форм кислорода (цитофлуориметрический метод двойного окрашивания пропидиум йодидом и DCF-DA).

Исследование мутагенности вновьсинтезированных соединений проводилось в микроядерном тесте *in vitro*.

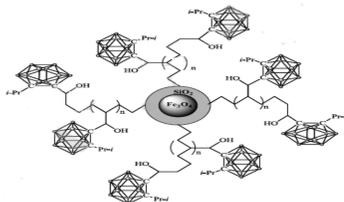
Анализ действия исследуемых соединений на пролиферативную активность клеток в культуре проводился цитофлуориметрическим методом (по распределению клеток по стадиям клеточного цикла).

Образцами для исследований являлись гетероциклические соединения карборанового ряда, синтезированные зарубежным партнером - сотрудниками Астанинского филиала РГП на ПХВ Института ядерной физики Министерства энергетики Республики Казахстан (Казахстан). Исследуемые образцы представляли собой:

- Образец 1 – производное азолидина А;
- Образец 2 – производное азолидина В;
- Образец 3 – производное азолидина С;
- Образец 4 – производное азолидина D;
- Образец 5 – производное, содержащее в своем составе оксид железа и кремний ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  / TEOS / TMSPM / GMA / Carborane).

Клетки выращивали в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе (Herra Cell) при  $37^\circ\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , относительной влажности воздуха 80 % на 96-луночных планшетах (посевная концентрация – 50-70 тыс. кл./мл). В лунки с прикрепившимися клетками (вторые сутки культивирования) вносили исследуемые концентрации образцов, растворенных в сывороточном альбумине (Sigma, USA). После 24-часовой экспозиции исследуемых образцов проводилась оценка мутагенных и цитотоксических свойств.

Рис.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  / TEOS / TMSPM / GMA / Carborane



**Результаты исследований:** экспериментальная оценка цитотоксических свойств синтезированных соединений проводилась на культурах клеток (перевиваемые клеточные линии, первичные культуры) по показателям метаболической активности клеток (МТТ-тест), жизнеспособности и уровня активных форм кислорода (цитофлуориметрический метод двойного окрашивания пропидиум йодидом и DCF-DA) для выявления образцов с наименьшей токсичностью.

Показано, что в культуре клеток эмбриональных мышинных фибробластов наибольшей цитотоксичностью обладают гетероциклические производные азолидинов, наименее токсичен образец  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  / TEOS / TMSPM / GMA / Carborane (таблица).

№ образца	IC <sub>50</sub> , мг/мл
1	0,214
2	0,105
3	0,125
4	0,096
5	0,571

Показано, что инкубация клеток периферической крови в присутствии исследуемых образцов может увеличивать концентрацию АФК в клетках (таблица), при этом гибели клеток не отмечалось.

№	Группа	Среднее значение флуоресценции зонда DCF	% клеток DCF, PI <sup>+</sup> (жизнеспособные, не содержат АФК)	% клеток DCF <sup>+</sup> , PI <sup>-</sup> (жизнеспособные, содержат АФК)	% клеток DCF, PI <sup>+</sup> (нежизнеспособные, не содержат АФК)	% клеток DCF <sup>+</sup> , PI <sup>+</sup> (нежизнеспособные, содержат АФК)
1	Образец 1	2,7±0,3	96,39±4,1	0,97±0,05	1,54±0,3	1,1±0,3
2	Образец 2	5,12*±0,5	88,4±2,3	9,3*±1,7	1,05±0,2	1,35±0,4
3	Образец 3	2,7±0,2	96,39±2,3	0,97±0,11	1,54±0,1	1,1±0,2
4	Образец 4	2,7±0,5	96,39±2,8	0,97±0,08	1,54±0,4	1,1±0,09
5	Образец 5	2,7±0,6	96,39±3,1	0,97±0,26	1,54±0,3	1,1±0,1
6	1 мМ р-р H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	9,54*±1,1	48,23*±5,7	40,35*±6,1	0,5±0,3	10,93*±1,1
7	Контроль	2,89±0,1	95,73±3,2	1,3±0,2	1,73±0,3	1,25±0,3

Были выполнены исследования по оценке мутагенных свойств в микроядерном тесте. Показано, что в культуре лимфоцитов крови человека гетероциклические производные азолидинов не обладают мутагенной активностью в микроядерном тесте *in vitro*.

грант БРФФИ № М20МС-024 от 04.05.2020 (РБ + Казахстан)

«Технология синтеза и токсикологическая оценка карборанилсодержащих гетероциклических соединений – потенциальных агентов для борнейтронзахватной терапии рака»



**Вывод:** Оценены цитотоксические свойства синтезированных карборанилсодержащих соединений. Все исследуемые соединения не обладают мутагенной активностью в микроядерном тесте *in vitro*.

В культуре клеток эмбриональных крысиных фибробластов добавление гетероциклических производных азолидинов приводит к снижению пролиферации клеток. Цитотоксические свойства образца  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  / TEOS / TMSPM / GMA / Carborane выражены в наименьшей степени (минимальная действующая концентрация соединения – 0,6 мг/мл).