

# ДИНАМИКА БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ L-БОРФЕНИЛАЛАНИНА В ОРГАНАХ МЫШИ С ПОДКОЖНЫМ КСЕНОГРАФТОМ ОПУХОЛИ — МОДЕЛЬ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕЙТРОННЫХ ИСТОЧНИКОВ ДЛЯ БОР-НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ

DOI: 10.17691/stm2023.15.6.02

УДК 616–006:615.849.12

Поступила 3.03.2023 г.



**И.Н. Дружкова**, к.б.н., научный сотрудник лаборатории флуоресцентного биоимиджинга  
НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий<sup>1</sup>;

**А.А. Пахомова**, студент<sup>2</sup>;

**Н.И. Игнатова**, к.б.н., доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины<sup>1</sup>;

**А.Р. Сулейманова**, студент<sup>1</sup>;

**А.В. Масленникова**, д.м.н., зав. кафедрой онкологии, лучевой терапии и лучевой диагностики<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1,  
Н. Новгород, 603005;

<sup>2</sup>Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,  
пр. Гагарина, 23, Н. Новгород, 603022

Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) в силу высокой биологической эффективности является одним из наиболее перспективных методов лучевой терапии злокачественных опухолей. В настоящее время исследования в этой области получили новый импульс благодаря появлению принципиально новых компактных источников нейтронов, подходящих для клинического применения.

**Цель исследования** — изучить биораспределение препарата L-борфенилаланин (L-BPA) в органах экспериментальных животных с подкожным ксенографтом опухоли и оценить возможности применения данной экспериментальной модели для оценки эффективности использования новых нейтронных источников.

**Материалы и методы.** Эксперименты проводили на мышах линии BALB/c с подкожным ксенографтом аденокарциномы мыши СТ26. Препарат L-BPA в молярном избытке фруктозы вводили внутривенно в дозе 350 мг/кг, исследуемые органы забирали через 1,5; 3; 6 и 24 ч после введения препарата. Анализ содержания изотопа <sup>10</sup>B выполняли с помощью масс-спектропии с индуктивно-связанной плазмой (МС-ИСП). Отсутствие токсического воздействия верифицировали с помощью патоморфологического анализа.

**Результаты.** Максимальное содержание L-BPA в опухоли оказалось равным 142,0±4,41 мкг/г через 1,5 ч после введения препарата. Минимальная терапевтическая концентрация L-BPA в опухоли сохраняется до 5,4 ч после введения. Среди нормальных органов максимальное содержание наблюдалось в почках, что, вероятнее всего, связано не с истинным содержанием L-BPA в тканях, а со структурно-функциональными особенностями органа. Гистологические исследования не выявили структурных нарушений и дистрофических изменений тканей на фоне введения L-BPA.

**Заключение.** Результаты проведенного исследования демонстрируют пригодность исследуемой опухолевой модели для оценки эффективности использования новых нейтронных источников для БНЗТ. Содержание L-BPA в опухоли и время сохранения минимальной терапевтической концентрации оказались достаточными для проведения эффективной БНЗТ. Высокая концентрация накопления <sup>10</sup>B относительно непатологических тканей позволяет минимизировать возможные побочные эффекты данного метода терапии.

**Ключевые слова:** бор-нейтронозахватная терапия; L-борфенилаланин; L-BPA; масс-спектропия с индуктивно-связанной плазмой; биораспределение; лучевая терапия.

**Как цитировать:** Druzkova I.N., Pakhomova A.A., Ignatova N.I., Suleymanova A.R., Maslennikova A.V. L-boronphenylalanine biodistribution dynamics in the organs of mice with subcutaneous tumor xenograft is a model to assess neutron sources efficiency in boron neutron capture therapy. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2023; 15(6): 14, <https://doi.org/10.17691/stm2023.15.6.02>

Для контактов: Дружкова Ирина Николаевна, e-mail: danirin@ya.ru

English

## L-Boronphenylalanine Biodistribution Dynamics in the Organs of Mice with Subcutaneous Tumor Xenograft is a Model to Assess Neutron Sources Efficiency in Boron Neutron Capture Therapy

I.N. Druzkova, PhD, Researcher, Fluorescent Bioimaging Laboratory, Research Institute of Experimental Oncology and Biomedical Technologies<sup>1</sup>;

A.A. Pakhomova, Student<sup>2</sup>;

N.I. Ignatova, PhD, Associate Professor, Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine<sup>1</sup>;

A.R. Suleymanova, Student<sup>1</sup>;

A.V. Maslennikova, MD, DSc, Head of the Department of Oncology, Radiation Therapy and Radiology<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

<sup>2</sup>National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603022, Russia

Boron neutron capture therapy (BNCT), due to its high biological efficiency, is one of the most promising methods of radiation therapy for malignant tumors. Currently, research in this area has received momentum due to the emergence of fundamentally new compact neutron sources suitable for clinical use.

**The aim of the investigation** was to study L-boronphenylalanine (L-BPA) biodistribution in the organs of experimental animals with subcutaneous tumor xenografts, and evaluate the application of the experimental model to assess the effectiveness of new neutron sources.

**Materials and Methods.** The experiments were carried out on BALB/c mice with subcutaneous xenograft of mouse adenocarcinoma CT26. L-boronphenylalanine in a molar excess of fructose was administered intravenously at a dose of 350 mg/kg, the organs under study were taken 1.5, 3, 6, and 24 h after drug administration. The content of the <sup>10</sup>B isotope was analyzed using inductively coupled plasma mass spectroscopy (ICP-MS). The absence of toxic effects was verified pathomorphologically.

**Results.** The maximum L-BPA content in the tumor was 142.0±4.41 µg/g 1.5 h after drug administration. The minimum therapeutic concentration of L-BPA in the tumor persists up to 5.4 h after drug administration. Among normal organs, the maximum content was observed in the kidneys, it is most likely being associated with the structural and functional features of the organ rather than the true content of L-BPA in the tissues. Histological studies revealed no structural disorders and dystrophic changes in tissues against the background of L-BPA introduction.

**Conclusion.** The results of the study demonstrate the feasibility of the studied tumor model to evaluate the efficiency of new neutron sources for BNCT. The L-boronphenylalanine content in the tumor and the time of maintaining the minimum therapeutic concentration appeared to be sufficient for effective BNCT. The high contrast of <sup>10</sup>B accumulation relative to non-pathological tissues minimizes the possible side effects of BNCT.

**Key words:** boron neutron capture therapy; L-boronphenylalanine; L-BPA; inductively coupled plasma mass spectroscopy; biodistribution; radiation therapy.

### Введение

Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) является формой бинарной лучевой терапии и одним из наиболее эффективных и перспективных методов лечения злокачественных новообразований на сегодняшний день. Метод основан на использовании реакций, возникающих между ядрами изотопа <sup>10</sup>B и потоком нейтронов, обладающих энергией в диапазоне 5·10<sup>-3</sup>–5·10<sup>4</sup> эВ.

Одной из наиболее существенных проблем, препятствующих широкому клиническому внедрению БНЗТ, является отсутствие компактных источников нейтронного излучения, которые могут быть инсталлированы непосредственно в радиотерапевтической клинике. С самого начала развития метода БНЗТ для получения пучков тепловых и эпитепловых нейтронов

использовали ядерные реакторы, что резко ограничило возможность внедрения методики в клиническую практику. Пучки получали на основе самоподдерживающейся цепной ядерной реакции распада урана-235. Спектр таких нейтронов имеет энергию до 10 МэВ со средней энергией около 2 МэВ [1, 2]. Однако в настоящее время уже появились прототипы компактных ускорительных источников различных модификаций, которые позволяют получать пучки нейтронов с энергией, близкой к необходимой для клинического использования [3–9]. Помимо этого разработаны прототипы D-D-нейтронных генераторов, позволяющие получать пучки нейтронов с рекордной для компактных систем плотностью [10, 11]. Таким образом, в настоящее время БНЗТ получила свое второе рождение и решение связанных с ее реализацией биологических задач вновь приобретает актуальность.

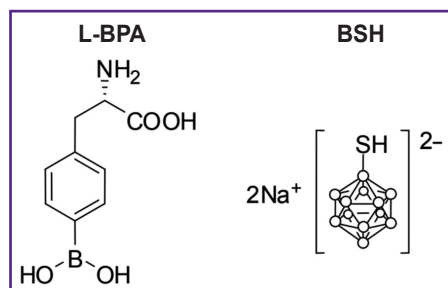


Рис. 1. Структурные формулы L-BPA (L-р-дигидроксиборанилфенилаланин, 4-(dihydroxyboranyl)-L-phenylalanine) и BSH (динатриевая соль меркаптоундекагидроклозо-додекобората, sodium borocaptate), разрешенных для клинического применения в качестве бор-содержащих агентов

В качестве второго компонента БНЗТ выступают препараты бора, содержащие атомы  $^{10}\text{B}$ . В настоящее время для клинического применения разрешены только два препарата: L-р-дигидроксиборанилфенилаланин (4-(dihydroxyboranyl)-L-phenylalanine, L-BPA) и динатриевая соль меркаптоундекагидроклозо-додекобората (sodium borocaptate, BSH), структурные формулы которых представлены на рис. 1.

Препарат L-BPA является аминокислотой, которая способна относительно селективно (максимальный контраст 2:1) накапливаться в опухоли за счет более эффективной транспортной системы L-аминокислот в ее клетках по сравнению с нормальными [12, 13]. Соединение содержит только один атом бора, однако благодаря низкой токсичности препарата в целом дает возможность накопить в опухолевых клетках достаточное для терапии количество бора. В составе BSH 12 атомов бора, что позволяет с большей вероятностью достигать необходимой терапевтической концентрации (24–35 мкг/г) в клетках опухоли [14], хотя у этого препарата меньший контраст накопления (1,1–1,8:1) по сравнению с L-BPA [15].

Из этого следует, что контроль эффективности накопления изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли-мишени, а также в окружающих нормальных тканях имеет важное и актуальное значение для развития БНЗТ.

Наибольшая точность определения содержания изотопа  $^{10}\text{B}$  достигается при использовании прямых методов, таких как гамма-спектроскопия [16–18], масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (МС-ИСП) [19, 20], альфа-радиография высокого разрешения, альфа-спектроскопия и нейтронозахватная радиография [21, 22], вторичная нейтральная масс-спектрометрия [23], спектроскопия характеристических потерь энергии электронами [24], масс-спектрометрия с ионной ловушкой [25]. С помощью указанных методов были получены данные о накоплении изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли и некоторых тканях и органах. Однако подробные исследования динамики содержания изотопов  $^{10}\text{B}$  в опухоли и жизненно важ-

ных внутренних органах, которые могут стать мишенью для воздействия нейтронов, в настоящее время отсутствуют.

Выбор адекватной опухолевой модели для оценки эффектов БНЗТ также является важной задачей.

**Цель исследования.** В данной работе в качестве потенциальной модели для оценки эффективности использования источников нейтронов нами предложена модель опухолевого подкожного ксенографта, полученного из клеточной линии аденокарциномы кишечника мыши СТ26 у мышей линии BALB/c. В динамике методом МС-ИСП изучено биораспределение L-борфенилаланина в органах и тканях экспериментальных животных и определены перспективы использования представленной модели для оценки эффективности применения новых источников нейтронов.

## Материалы и методы

**Приготовление раствора L-борфенилаланина в молярном избытке фруктозы.** Препарат L-BPA для экспериментов предоставлен сотрудниками Института ядерной физики им. Г.И. Будкера Сибирского отделения Российской академии наук (Новосибирск). Раствор препарата в молярном избытке фруктозы изготовляли согласно протоколу J.A. Coderge и соавт. [26]. Для этого готовили навеску L-BPA для получения раствора с конечной концентрацией 35 мг/мл и навеску фруктозы из расчета соотношения L-BPA:фруктоза = 1:1,1. Навеску L-BPA растворяли в очищенной с помощью системы MilliQ (Millipore, Германия) воде с получением мутного раствора с исходным значением pH=4,5–6,0. Затем с помощью 10N раствора NaOH доводили значение pH до 9,0–10,5. Перемешивали полученный раствор в течение 20 мин до достижения прозрачности, добавляли к нему навеску фруктозы и перемешивали еще в течение минимум 10 мин для образования комплекса L-BPA и фруктозы. Далее с помощью концентрированной 1 M HCl постепенно доводили pH до значения 7,4, избегая преципитации раствора. Готовый раствор использовали в день приготовления или хранили при температуре 4°C не более 12 дней. Перед использованием раствор фильтровали через антибактериальный фильтр с диаметром пор 0,2 мкм.

**Эксперименты на животных.** Исследования проводили на мышах линии BALB/c. У животных формировали подкожную опухоль путем инъекции суспензии клеток СТ26 в концентрации  $5 \cdot 10^5$  клеток в 100 мкл фосфатно-буферного раствора в область правого бедра. По достижении опухолью объема около 50 мм<sup>3</sup> животным внутривенно в латеральную хвостовую вену вводили препарат L-BPA в насыщенном растворе фруктозы в дозе 350 мг/кг массы тела. Исследования были одобрены локальным этическим комитетом Приволжского исследовательского медицинского университета (Нижегород) (протокол №19 от 09.12.2022).

Для забора тканей животных наркотизировали смесью Золетила в дозе 40 мг/кг и 2% Рометара в дозе 10 мг/кг с последующей этаназией путем дислокации шейных позвонков. Образцы тканей животных, а именно печени, почек, селезенки, кишечника, легких, опухоли, кожи, мышечной ткани и крови забирали через 1,5; 3; 6 и 24 ч после введения препарата в объеме не менее 100 мг. Образцы собирали в промаркированные пробирки и помещали на хранение в морозильную камеру при  $-80^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа. В каждой временной точке забирали образцы тканей у трех животных ( $n=12$ ). По аналогичной схеме проводили анализ биораспределения L-BPA в тканях животных без опухоли ( $n=12$ ). Всего в исследование включено 24 животных.

**Определение содержания изотопа  $^{10}\text{B}$  методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой.** Данная часть работы выполнена в Институте проблем технологии микроэлектроники и особых материалов РАН (Черноголовка).

**Разложение образцов тканей.** Эту процедуру проводили в системе автоклавного разложения с резистивным нагревом. Навески анализируемых образцов массой от 60 до 200 мг помещали в тефлоновые реакционные емкости автоклавов, добавляли по 2 мл концентрированной азотной кислоты —  $\text{HNO}_3$ , 65% (Merck, Германия) и выдерживали 20 мин при  $160^{\circ}\text{C}$  и 1 ч при  $200^{\circ}\text{C}$ .

**Масс-спектральный анализ с индуктивно-связанной плазмой.** Содержание изотопов  $^{10}\text{B}$  и  $^{11}\text{B}$ , а также  $^9\text{Be}$  и  $^{115}\text{In}$  (используются как внутренние стандарты для учета временных изменений чувствительности масс-спектрометра и учета матричного эффекта) в образцах определяли с помощью масс-спектрометра XSeries 2 (Thermo Fisher Scientific, США) при следующих параметрах его работы: выходная мощность генератора — 1350 Вт; распылитель — концентрический PolyCon (Glass Expansion); распылительная камера — кварцевая охлаждаемая ( $3^{\circ}\text{C}$ ); расход плазмообразующего потока аргона — 13 л/мин; расход вспомогательного потока аргона — 0,89 л/мин; расход анализируемого образца — 0,8 мл/мин; разрешение — 0,8 М.

Определение изотопов в образцах выполняли с применением внешней калибровки по градуировочным растворам (содержащим от 1 до 500 мкг/л определяемых элементов), в числе которых использовали многоэлементный стандартный раствор ICP-MS-68; раствор А; многоэлементный стандартный раствор ICP-AM-6A; сертифицированный эталонный материал «Следы металлов в питьевой воде», Standard В CRM-TMDW-B (все растворы производства High-Purity Standards, США).

**Статистическая обработка данных.** Данные представлены в виде среднего арифметического по трем измерениям  $\pm$  среднее квадратичное отклонение. Контраст накопления рассчитывали как отношение содержания  $^{10}\text{B}$  в опухоли к содержанию его в

исследуемых органах и тканях (крови). При расчете времени достижения минимальной терапевтической концентрации для кривой снижения содержания  $^{10}\text{B}$  в опухоли была построена линия тренда с максимальным значением  $R^2$  (степенная зависимость), время  $t$  рассчитывали по формуле:

$$t=[C_{\min}/252,41]^{1/(-1,394)},$$

где  $C_{\min}$  — минимальная терапевтическая концентрация, равная 24 мкг/г.

## Результаты

В ходе работы с целью выявления распределения L-BPA проанализировано содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  методом МС-ИСП в следующих тканях и органах животных: печени, почках, селезенке, кишечнике, легких, коже, мышечной ткани, крови и опухоли (при наличии). Образцы органов и крови забирали через 1,5; 3; 6 и 24 ч после внутривенного введения L-BPA.

**Биораспределение L-борфенилаланина в органах и тканях животных с привитой опухолью.** Среднее содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  в исследуемых тканях животных с привитой опухолью после введения препарата приведено в табл. 1.

На рис. 2 представлена кривая, отражающая снижение содержания изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли в зависимости от времени после введения препарата, и диаграмма, показывающая содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  в органах и крови через 1,5 ч после введения препарата.

Через 1,5 ч после введения L-BPA контраст содержания изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли относительно крови составил 4,4, а относительно исследованных органов —

Т а б л и ц а 1

**Содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  в органах и ткани животных с привитой опухолью после введения L-борфенилаланина**

Орган/ткань	Содержание $^{10}\text{B}$ , мкг/г			
	1,5 ч	3 ч	6 ч	24 ч
Опухоль	142,0 $\pm$ 4,41	59,30 $\pm$ 3,63	18,67 $\pm$ 4,0	3,10 $\pm$ 0,01
Легкое	45,0 $\pm$ 1,40	18,90 $\pm$ 1,16	6,57 $\pm$ 1,41	<ПО
Печень	31,50 $\pm$ 0,98	15,13 $\pm$ 0,93	5,33 $\pm$ 1,14	<ПО
Почка	107,30 $\pm$ 3,34	35,70 $\pm$ 2,19	11,60 $\pm$ 2,49	0,82 $\pm$ 0,01
Селезенка	50,77 $\pm$ 1,58	25,13 $\pm$ 1,54	6,90 $\pm$ 1,48	<ПО
Кишечник	39,73 $\pm$ 1,24	30,57 $\pm$ 1,87	7,87 $\pm$ 1,69	0,59 $\pm$ 0,01
Мышца	67,40 $\pm$ 2,10	25,37 $\pm$ 1,55	7,50 $\pm$ 1,61	0,75 $\pm$ 0,01
Кожа	73,17 $\pm$ 2,27	28,70 $\pm$ 1,76	9,70 $\pm$ 2,08	<ПО
Кровь	32,17 $\pm$ 1,0	16,33 $\pm$ 1,0	4,67 $\pm$ 1,0	<ПО

П р и м е ч а н и е: ПО — предел определения.



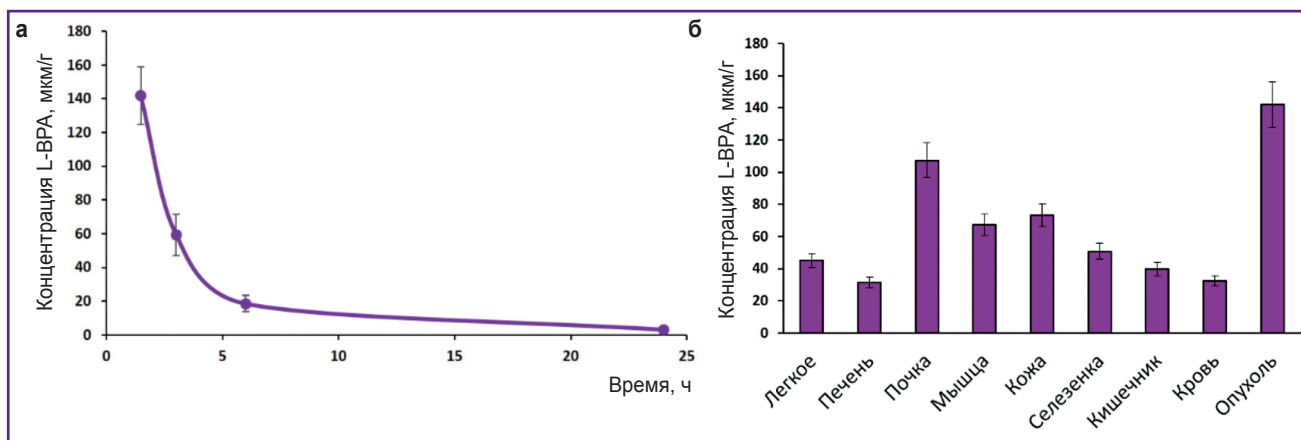


Рис. 2. Содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  в органах животных с привитой опухолью после введения L-борфенилаланина: а — динамика снижения содержания  $^{10}\text{B}$  в опухоли; б — распределение  $^{10}\text{B}$  в органах животных через 1,5 ч после введения L-борфенилаланина

Таблица 2

Контраст накопления изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли

Орган/ткань	Относительно органа		Относительно крови	
	1,5 ч	3 ч	1,5 ч	3 ч
Опухоль	1,0	1,0	4,41	3,63
Легкое	3,15	3,14	1,40	1,16
Печень	4,51	3,92	0,98	0,93
Почка	1,32	1,66	3,34	2,19
Селезенка	2,80	2,10	1,58	1,54
Кишечник	3,57	1,94	1,24	1,87
Мышца	2,11	2,34	2,10	1,55
Кожа	1,94	2,10	2,27	1,76
Кровь	4,41	3,63	1,0	1,0

от 1,3 до 4,5 (табл. 2). При этом содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли значительно превышало необходимую (согласно данным литературы) терапевтическую концентрацию (24–35 мкг/г).

При аппроксимации кривой снижения содержания изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли и непатологических органах рассчитано время достижения минимальной необходимой терапевтической концентрации (24 мкг/г). Установлено, что минимальная концентрация в опухоли достигается спустя 5,4 ч после введения препарата, тогда как для большинства внутренних органов, кроме кожи и почек, это время составляет от 1,0 до 2,6 ч. Следовательно, оптимальным временем для облучения опухоли можно считать время от 1,5 до 5,5 ч после введения препарата.

**Биораспределение L-борфенилаланина в органах животных без опухоли.** Исследование биораспределения L-ВРА в органах и тканях животных без

опухолей показало, что через 1,5 ч после введения препарата содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  в целом не отличалось от такового у животных с опухолью, однако можно отметить более быстрое его снижение в органах этих животных. Средние значения содержания изотопа  $^{10}\text{B}$  в органах животных без опухоли представлены в табл. 3.

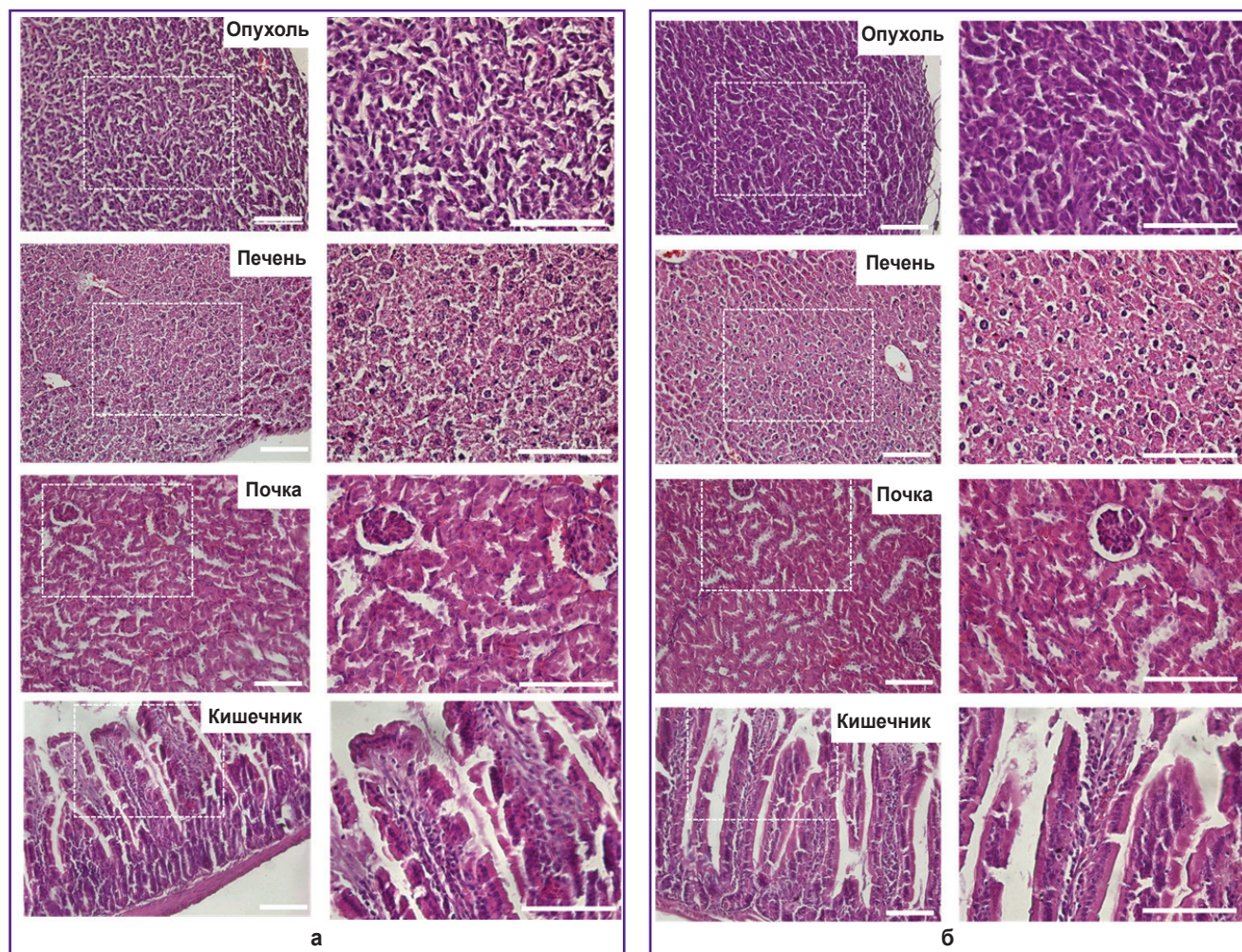
**Гистологические исследования.** Для верификации данных об отсутствии токсического эффекта L-ВРА на органы животных с подкожным ксенографтом опухоли без введения и после введения L-ВРА были собраны образцы отдельных органов и тканей. Патоморфологический анализ не выявил структурных нарушений и признаков клеточной дистрофии в тканях

Таблица 3

Содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  в органах и ткани животных без опухоли после введения L-борфенилаланина

Орган/ткань	Содержание $^{10}\text{B}$ , мкг/г			
	1,5 ч	3 ч	6 ч	24 ч
Легкое	45,20±7,10	13,53±3,04	3,73±1,45	<ПО
Печень	27,80±3,97	12,05±2,09	3,40±1,22	<ПО
Почка	59,73±4,16	28,80±9,43	9,27±4,37	<ПО
Селезенка	46,83±1,38	19,77±4,72	5,13±2,18	<ПО
Кишечник	36,37±5,06	14,87±3,13	3,93±1,27	<ПО
Мышца	39,20±6,75	17,87±9,21	3,10±1,76	<ПО
Кожа	76,93±17,24	22,0±8,69	4,53±2,23	<ПО
Кровь	27,37±3,15	11,13±1,86	3,03±1,26	<ПО

Примечание: ПО — предел определения.



**Рис. 3. Репрезентативные гистологические изображения органов мыши и опухоли:**

а — без введения L-BPA; б — после введения L-BPA. Бар — 200 мкм для всех изображений, пунктиром выделена область, снятая с большим увеличением (на правой панели)

и органах животных с подкожным ксенографтом опухоли на фоне введения L-BPA по сравнению с контрольными животными (без введения L-BPA) (рис. 3).

### Обсуждение

С помощью метода МС-ИСП максимальное содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли ( $142,0 \pm 4,41$  мкг/г) было определено через 1,5 ч после введения L-BPA, при этом контраст содержания изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли относительно крови составил 4,4, а относительно опухоли и исследованных органов — от 1,3 до 4,5. Необходимая терапевтическая концентрация изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли сохранялась до 5,5 ч после введения препарата с поддержанием контраста накопления относительно крови 3,63 и относительно других органов — 1,66–3,92.

Данные показатели являются одними из наиболее высоких из приведенных в литературе. Так, в работе I.H. Seo с соавт. [27] для модели подкожной гетерото-

пической опухоли U87 (глиома человека) при внутривенном введении L-BPA в дозе 500 мг/кг содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  через 1 ч после инъекции составляло  $23,7 \pm 5,1$  мкг/г при контрасте накопления относительно крови 2,8. Для модели DLD-1 (колоректальный рак) в забрюшинном пространстве при внутрибрюшинной инъекции L-BPA в дозе 250 мг/кг накопление в опухоли достигало максимума к четырем часам после инъекции и составляло  $123,6 \pm 29,9$  мкг/г при контрасте накопления относительно крови  $8,69 \pm 3,24$  [28]. В работе K. Yoshimura с соавт. [29] при формировании лимфомы в мозге мыши после внутриопухолевого введения L-BPA в дозе 24 мг/кг содержание  $^{10}\text{B}$  в опухоли составило  $9,9 \pm 1,6$  мкг/г с контрастом накопления относительно крови 0,7. В работе А.Р. Цыганковой с соавт. [30] на модели подкожной опухоли глиомы U87 при введении L-BPA в дозе 350 мг/кг в ретроорбитальный синус содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли через 2 ч после инъекции составило  $11,0 \pm 2,0$  мкг/г с контрастом накопления относительно крови 1,6. В работе W. Lee



и соавт. [31] на такой же экспериментальной модели через 1 ч после внутривенного введения содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  было определено равным  $152,2 \pm 12,1$  мкг/г. Эти данные подтверждают более высокую эффективность внутривенного введения по сравнению с введением его в ретроорбитальный синус. Однако в данной работе не показано биораспределение изотопа  $^{10}\text{B}$  в других органах животных.

Следует отметить, что более высокое содержание по сравнению с другими нормальными тканями изотопа  $^{10}\text{B}$  наблюдалось в почках, однако, по-видимому, это связано с функциональной и структурной особенностью почек как фильтрующего органа, поскольку основную часть паренхимы составляют фильтрующие структуры: каналцы, фильтрующий аппарат (камера Боумена–Шумлянско-го), а также почечные лоханки, в которых скапливается первичный фильтрат, представляющий собой по сути плазму крови. Данные значения отражают не столько содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  в тканях, сколько содержание его в биологических жидкостях. Относительно высокое содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  наблюдалось также в коже, что, в частности, связано с активным поглощением L-BPA меланоцитами, поскольку его химическая структура аналогична тирозину, необходимому для меланогенеза [32].

Таким образом, в нашей работе впервые было выполнено исследование биораспределения препарата L-BPA в органах животных с привитой опухолью в динамике вплоть до 24 ч наблюдения. Полученные результаты демонстрируют возможность начала облучения модельной опухоли через 1,5 ч после введения препарата, когда содержание изотопа  $^{10}\text{B}$  в опухоли составляет около 140 мкг/г, и возможность проведения облучения в течение как минимум 4 ч. При этом на протяжении всего планируемого времени облучения в опухоли будет сохраняться минимальная необходимая концентрация изотопа  $^{10}\text{B}$  для проведения БНЗТ, а контраст накопления относительно крови будет поддерживаться на уровне 4,4–3,5, что позволит достичь терапевтического эффекта.

## Заключение

Полученные результаты динамики биораспределения L-борфенилаланина демонстрируют пригодность опухолевой модели (подкожного ксенографта опухоли СТ26 у мышей линии BALB/c) для проведения исследований по оценке эффективности новых нейтронных источников для бор-нейтронозахватной терапии. Установлено накопление препарата L-борфенилаланина в опухоли в достаточном количестве для проведения эффективного лечения, сохранение минимальной терапевтической концентрации в течение длительного времени с хорошим контрастом накопления относительно непатологических органов, что позволяет минимизировать выраженность возможных побочных эффектов бор-нейтронозахватной терапии.

**Финансирование.** Исследование выполнено за счет средств научно-исследовательской работы «Изучение эффективности нейтронного D-D-генератора для задач бор-нейтронозахватной терапии» в рамках Федеральной научно-технической программы «Развитие синхротронных и нейтронных исследований и исследовательской инфраструктуры».

**Благодарности.** Коллектив авторов благодарит сотрудников Института ядерной физики им. Г.И. Будкера Сибирского отделения Российской академии наук (Новосибирск) С.Ю. Таскаева, Д.А. Касатова, А.И. Касатову за предоставленный для исследования препарат L-BPA и сотрудников Института проблем технологии микроэлектроники и особочистых материалов РАН (Черноголовка) В.К. Карандышева, В.А. Хвостикова, Т.В. Орлову за выполнение анализа содержания бора в образцах биологических тканей методом МС-ИСП.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии какого-либо конфликта интересов.

## Литература/References

1. Barth R.F., Zhang Z., Liu T. A realistic appraisal of boron neutron capture therapy as a cancer treatment modality. *Cancer Commun (Lond)* 2018; 38(1): 36, <https://doi.org/10.1186/s40880-018-0280-5>.
2. Nedunchezian K., Aswath N., Thiruppathy M., Thirugnanamurthy S. Boron neutron capture therapy — a literature review. *J Clin Diagn Res* 2016; 10(12): ZE01–ZE04, <https://doi.org/10.7860/jcdr/2016/19890.9024>.
3. Belchenko Y., Savkin V. Direct current H<sup>-</sup> source for the medicine accelerator (invited). *Rev Sci Instrum* 2004; 75(5): 1704–1708, <https://doi.org/10.1063/1.1699457>.
4. Belchenko Y.I., Grigoryev E. Surface-plasma negative ion source for the medicine accelerator. *Rev Sci Instrum* 2002; 73(2): 939–939, <https://doi.org/10.1063/1.1432463>.
5. Akhmetov T.D., Davydenko V.I., Ivanov A.A., Kobets V.V., Medvedko A.S., Skorobogatov D.N., Tiunov M.A. Radially uniform circular sweep of ion beam. *Rev Sci Instrum* 2006; 77(3): 03C106, <https://doi.org/10.1063/1.2162854>.
6. Tahara Y., Abe S., Akiyama Y., Kamei Y., Tsutsui T., Yokobori H., Unno Y., Baba M. A BNCT neutron generator using a 30 MeV proton beam. In: *Proc 12<sup>th</sup> 101 Int Cong Neutron Capture Therapy*. Takamatsu, Japan; 2006; p. 327–330.
7. Tanaka H., Sakurai Y., Suzuki M., Masunaga S., Mitsumoto T., Fujita K., Kashino G., Kinashi Y., Liu Y., Takada M., Ono K., Maruhashi A. Experimental verification of beam characteristics for cyclotron-based epithermal neutron source (C-BENS). *Appl Radiat Isot* 2011; 69(12): 1642–1645, <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2011.03.020>.
8. Taskaev S.Y. Accelerator based epithermal neutron source. *Phys Part Nucl* 2015; 46: 956–990.
9. Taskaev S.Y. Development of an accelerator-based epithermal neutron source for boron neutron capture therapy. *Phys Part Nucl* 2019; 50: 569–575.
10. Skalyga V., Izotov I., Golubev S., Razin S., Sidorov A., Maslennikova A., Volovecky A., Kalvas T., Koivisto H., Tarvainen O. Neutron generator for BNCT based on high current ECR ion source with gyrotron plasma heating. *Appl Radiat Isot* 2015; 106: 29–33, <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2015.08.015>.

11. Skalyga V., Izotov I., Golubev S., Sidorov A., Razin S., Strelkov A., Tarvainen O., Koivisto H., Kalvas T. High yield neutron generator based on a high-current gasdynamic electron cyclotron resonance ion source. *J Appl Phys* 2015; 118(9): 093301, <https://doi.org/10.1063/1.4929955>.
12. Hattori Y., Kusaka S., Mukumoto M., Uehara K., Asano T., Suzuki M., Masunaga S., Ono K., Tanimori S., Kirihata M. Biological evaluation of dodecaborate-containing L-amino acids for boron neutron capture therapy. *J Med Chem* 2012; 55(15): 6980–6984, <https://doi.org/10.1021/jm300749q>.
13. Lin Y.C., Hwang J.J., Wang S.J., Yang B.H., Chang C.W., Hsiao M.C., Chou F.I. Macro- and microdistributions of boron drug for boron neutron capture therapy in an animal model. *Anticancer Res* 2012; 32(7): 2657–2664.
14. Garabalino M.A., Heber E.M., Monti Hughes A., González S.J., Molinari A.J., Pozzi E.C., Nieves S., Itoiz M.E., Aromando R.F., Nigg D.W., Bauer W., Trivillin V.A., Schwint A.E. Biodistribution of sodium borocaptate (BSH) for boron neutron capture therapy (BNCT) in an oral cancer model. *Radiat Environ Biophys* 2013; 52(3): 351–361, <https://doi.org/10.1007/s00411-013-0467-8>.
15. Sauerwein W.A.G. Principles and roots of neutron capture therapy. In: *Neutron capture therapy: principles and applications*. Moss R., Nakagawa Y. (editors). Springer; 2012; p. 1–16.
16. Matsumoto T., Aoki M., Aizawa O. Phantom experiment and calculation for in vivo  $^{10}\text{B}$  analysis by prompt gamma ray spectroscopy. *Phys Med Biol* 1991; 36(3): 329–338, <https://doi.org/10.1088/0031-9155/36/3/002>.
17. Mukai K., Nakagawa Y., Matsumoto K. Prompt gamma ray spectrometry for in vivo measurement of boron-10 concentration in rabbit brain tissue. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 1995; 35(12): 855–860, <https://doi.org/10.2176/nmc.35.855>.
18. Wittig A., Huiskamp R., Moss R.L., Bet P., Kriegeskotte C., Scherag A., Hilken G., Sauerwein W.A. Biodistribution of  $^{10}\text{B}$  for boron neutron capture therapy (BNCT) in a mouse model after injection of sodium mercaptoundecahydro-closo-dodecaborate and L-para-boronophenylalanine. *Radiat Res* 2009; 172(4): 493–499, <https://doi.org/10.1667/rr1700.1>.
19. Smith F.G., Wiederin D.R., Houk R.S., Egan C.B., Serfass R.E. Measurement of boron concentration and isotope ratios in biological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry with direct injection nebulization. *Anal Chim Acta* 1991; 248(1): 229–234, [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(00\)80889-2](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(00)80889-2).
20. Evans E.H., Giglio J.J. Interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry. A review. *J Anal At Spectrom* 1993; 8(1): 1–18, <https://doi.org/10.1039/ja9930800001>.
21. Solares G.R., Zamenhof R.G. A novel approach to the microdosimetry of neutron capture therapy. Part I. High-resolution quantitative autoradiography applied to microdosimetry in neutron capture therapy. *Radiat Res* 1995; 144(1): 50–58.
22. Alfassi Z.B., Probst T.U. On the calibration curve for determination of boron in tissue by quantitative neutron capture radiography. *Nucl Instrum Methods Phys Res A: Accel Spectrom Detect Assoc Equip* 1999; 428(2–3): 502–507, [https://doi.org/10.1016/s0168-9002\(99\)00145-x](https://doi.org/10.1016/s0168-9002(99)00145-x).
23. Yokoyama K., Miyatake S., Kajimoto Y., Kawabata S., Doi A., Yoshida T., Okabe M., Kirihata M., Ono K., Kuroiwa T. Analysis of boron distribution in vivo for boron neutron capture therapy using two different boron compounds by secondary ion mass spectrometry. *Radiat Res* 2007; 167(1): 102–109, <https://doi.org/10.1667/rr0501.1>.
24. Michel J., Sauerwein W., Wittig A., Balossier G., Zierold K. Subcellular localization of boron in cultured melanoma cells by electron energy-loss spectroscopy of freeze-dried cryosections. *J Microsc* 2003; 210(Pt 1): 25–34, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2818.2003.01172.x>.
25. March R.E. An introduction to quadrupole ion trap mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 1997; 32(4): 351–369.
26. Coderre J.A., Chanana A.D., Joel D.D., Elowitz E.H., Micca P.L., Nawrocky M.M., Chadha M., Gebbers J.O., Shady M., Peress N.S., Slatkin D.N. Biodistribution of boronophenylalanine in patients with glioblastoma multiforme: boron concentration correlates with tumor cellularity. *Radiat Res* 1998; 149(2): 163–170.
27. Seo I.H., Lee J., Na D., Kyung H., Yang J., Lee S., Jeon S.J., Choi J.W., Lee K.Y., Yi J., Han J., Yoo M., Kim S.H. The anti-tumor effect of boron neutron capture therapy in glioblastoma subcutaneous xenograft model using the proton linear accelerator-based BNCT system in Korea. *Life (Basel)* 2022; 12(8): 1264, <https://doi.org/10.3390/life12081264>.
28. Arima J., Taniguchi K., Yamamoto M., Watanabe T., Suzuki Y., Hamamoto H., Inomata Y., Kashiwagi H., Kawabata S., Tanaka K., Uchiyama K., Suzuki M., Lee S.W. Anti-tumor effect of boron neutron capture therapy in pelvic human colorectal cancer in a mouse model. *Biomed Pharmacother* 2022; 154: 113632, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113632>.
29. Yoshimura K., Kawabata S., Kashiwagi H., Fukuo Y., Takeuchi K., Futamura G., Hiramatsu R., Takata T., Tanaka H., Watanabe T., Suzuki M., Hu N., Miyatake S.I., Wanibuchi M. Efficacy of boron neutron capture therapy in primary central nervous system lymphoma: in vitro and in vivo evaluation. *Cells* 2021; 10(12): 3398, <https://doi.org/10.3390/cells10123398>.
30. Цыганкова А.Р., Каныгин В.В., Касатова А.И., Завьялов Е.Л., Гусельникова Т.Я., Кичигин А.И., Мухамадияров Р.А. Определение бора методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. Изучение биораспределения  $^{10}\text{B}$  в органах мышей. *Известия Академии наук. Серия химическая* 2020; 3: 601–607.
- Tsygankova A.R., Kanygin V.V., Kasatova A.I., Zav'yalov E.L., Gusef'nikova T.Y., Kichigin A.I., Mukhamadiyarov R.A. Determination of boron by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. Biodistribution of  $^{10}\text{B}$  in tumor-bearing mice. *Izvestia Akademii nauk. Seria himiceskaa* 2020; 3: 601–607.
31. Lee W., Kim K.W., Lim J.E., Sarkar S., Kim J.Y., Chang Y., Yoo J. In vivo evaluation of the effects of combined boron and gadolinium neutron capture therapy in mouse models. *Sci Rep* 2022; 12(1): 13360, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17610-4>.
32. Andoh T., Fujimoto T., Sudo T., Fujita I., Imabori M., Moritake H., Sugimoto T., Sakuma Y., Takeuchi T., Kawabata S., Kirihata M., Akisue T., Yayama K., Kurosaka M., Miyatake S., Fukumori Y., Ichikawa H. Boron neutron capture therapy for clear cell sarcoma (CCS): biodistribution study of p-borono-L-phenylalanine in CCS-bearing animal models. *Appl Radiat Isot* 2011; 69(12): 1721–1724, <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2011.02.005>.