

Оригинальные статьи

Научная статья

УДК 615.453.4.014.6

<https://doi.org/10.17308/kcmf.2023.25/10982>

Моделирование методом молекулярной динамики процесса прохождения липосомы с циннаризином через гематоэнцефалический барьер

Ю. А. Полковникова✉

Воронежский государственный университет,
Университетская пл., 1, Воронеж 394018, Российская Федерация

Аннотация

Липосомальные препараты обладают рядом преимуществ: защищают клетки организма от токсического действия лекарственных средств; пролонгируют действие введенного в организм лекарственного средства; защищают лекарственные вещества от деградации; способствуют проявлению нацеленной специфичности за счет селективного проникновения из крови в ткани; изменяют фармакокинетику лекарственных препаратов, повышая их фармакологическую эффективность; позволяют создать водорастворимую форму ряда лекарственных субстанций, увеличивая тем самым их биодоступность. В данной работе были проведены исследования по разработке методики определения степени включения в липосомы из соевого лецитина циннаризина, нашедшего широкое применение как корректора нарушений мозгового кровообращения. Целью данного исследования является определение расстояния между мембранами эндотелиоцитов, критического для прохождения липосомы через гематоэнцефалический барьер.

Моделирование изменения структуры липосомы с циннаризином, расположенной между двумя клеточными мембранами, проведено методом молекулярной динамики при различных расстояниях между мембранами. Квадратный плоский фрагмент двухслойной фосфолипидной мембраны был собран с использованием интернет-сервиса Charmm-GUI->Input Generator->Martini Maker->BilayerBuilder (<http://www.charmm-gui.org/?doc=input/tbilayer>). Оптимизация геометрии и моделирование молекулярной динамики в программе Gromacs 2019 с использованием силового поля Martini 2.2. По результатам моделирования крупнозернистой молекулярной динамики липосома из очищенного соевого лецитина с циннаризином, адсорбированным на ее внутренней и внешней поверхности, способна сохранять целостность, находясь между мембранами эндотелиоцитов при расстоянии между мембранами более 8 нм. При расстоянии между мембранами эндотелиоцитов менее 8 нм липосома с циннаризином, находящаяся между эндотелиоцитами, может терять структурную целостность за счёт слияния с мембраной эндотелиоцита.

В результате проведенных исследований установлено расстояние между мембранами эндотелиоцитов, при котором липосома с циннаризином, находящаяся между эндотелиоцитами, может терять структурную целостность за счёт слияния с мембраной эндотелиоцита.

Ключевые слова: молекулярная динамика, липосомы, циннаризин, гематоэнцефалический барьер

Для цитирования: Полковникова Ю. А. Моделирование методом молекулярной динамики процесса прохождения липосомы с циннаризином через гематоэнцефалический барьер. *Конденсированные среды и межфазные границы*. 2023; 25(1): 95–102. <https://doi.org/10.17308/kcmf.2023.25/10982>

For citation: Polkovnikova Yu. A. Simulation of the molecular dynamics of the passage of liposome with cinnarizine through the blood-brain barrier. *Condensed Matter and Interphases*. 2023;25(1): 95–102. <https://doi.org/10.17308/kcmf.2023.25/10982>

✉ Полковникова Юлия Александровна, e-mail: juli-polk@mail.ru

© Полковникова Ю. А., 2023



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.

1. Введение

Задачи направленной доставки лекарственных средств, а так же повышение их биодоступности, являются одними из приоритетных в фармакологии. В настоящее время разработка нового поколения лекарственных препаратов на основе липосом является стратегически важной, поскольку позволит решить многие задачи, связанные с направленной доставкой лекарственных веществ [1]. Липосомы привлекают исследователей как модельные системы для изучения механизмов функционирования биомембран, в качестве перспективных средств доставки биоактивных молекул и лекарственных средств, а так же за счет возможности широкого использования липосомальных форм лекарственных препаратов для лечения различных заболеваний [2]. Так, актуальна разработка липосомальных форм для терапии цереброваскулярных заболеваний [3, 4]. В настоящее время с этой целью применяют различные группы лекарственных препаратов, в том числе блокаторы кальциевых каналов, одним из самых широко применяемых и экономически доступных является лекарственный препарат циннаризин [5–11]. Многочисленные исследования лекарственного препарата подтвердили его эффективность при таких заболеваниях, как атеросклероз сосудов мозга без грубой очаговой симптоматики и ишемический инсульт. Он применяется после геморрагического инсульта и черепно-мозговых травм, при дисциркуляторной энцефалопатии [12].

Одним из сценариев проникновения липосом через гематоэнцефалический барьер является их прохождение между эндотелиоцитами [13, 14]. Такой сценарий становится возможным при патологических состояниях, когда проницаемость плотного соединения между эндотелиоцитами гематоэнцефалического барьера возрастает за счёт увеличения ширины щели между мембранами смежных клеток [15].

Цель исследования – определение расстояния между мембранами эндотелиоцитов, критического для прохождения липосомы через гематоэнцефалический барьер.

2. Экспериментальная часть

Для изучения процесса прохождения липосом через гематоэнцефалический барьер между эндотелиальными клетками было проведено моделирование изменения структуры липосомы с циннаризином, расположенной между двумя

клеточными мембранами, методом молекулярной динамики при различных расстояниях между мембранами. В качестве исходной структуры для моделирования был использован сферический фрагмент системы из результатов моделирования молекулярной динамики образования липосомы в присутствии циннаризина. Данный фрагмент содержал липосому диаметром 14.7 нм с адсорбированными на внутренней и внешней поверхностях молекулами циннаризина (125), а также молекулы воды (рис. 1).

Далее с использованием интернет-сервиса Charmm-GUI->Input Generator->Martini Maker->BilayerBuilder (<http://www.charmm-gui.org/?doc=input/mbilayer>) [16–19] был собран квадратный плоский фрагмент двухслойной фосфолипидной мембраны. Состав данного фрагмента был задан, исходя из литературных данных о составе цитоплазматической мембраны эндотелиоцита [20]. Так же с обеих сторон мембраны были помещены слои молекул воды с необходимым для нейтрализации отрицательного заряда анионных фосфолипидов количеством ионов Na^+ (табл. 1).

Липосома была помещена в водное окружение и совмещена с моделью клеточной мембраны эндотелиоцита с двух сторон от липосомы. Начальное расстояние между мембранами составляло 15.2 нм (151.81 Å) (табл. 2).

Далее проводились оптимизация геометрии и моделирование молекулярной динамики в программе Gromacs 2019 с использованием силового поля Martini 2.2 [21]. В процессе моделирования были использованы периодические граничные условия по всем осям координат. Предварительно проводилась оптимизация геометрии системы градиентными методом. Далее производилось термодинамическое уравновешивание с использованием термостатирования (310 К) и баростатирования (баростат Берендсена, 1 атм) [22,23]. Шаг моделирования в процессе термодинамического уравновешивания менялся от меньшего (0.5 фс) к большему (4 фс). Далее проводилось моделирование молекулярной динамики в течение 700 нс с шагом 5 фс (табл. 3).

Аналогичным образом производилось моделирование молекулярной динамики данной системы с уменьшенным расстоянием между мембранами. Для уменьшения расстояния часть молекул воды удалялась из пространства между мембранами.

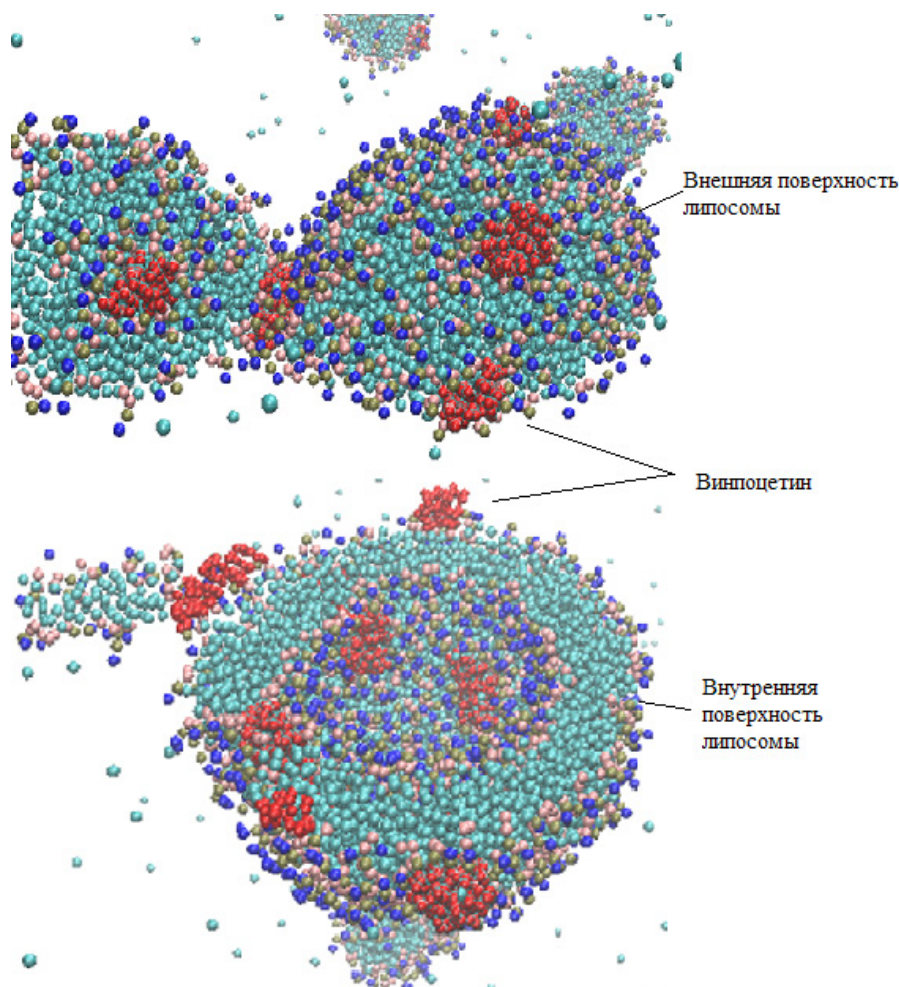


Рис. 1. Адсорбция молекул циннаризина на внутренней и внешней поверхностях липосомы

Таблица 1. Состав модели клеточной мембраны эндотелиоцита

Компонент	Сокращенное название	Количество молекул
Диолеил-фосфатидилхолин	DOPC	78
Дипальмитоил-фосфатидилхолин	DPPC	368
Пальмитоил-олеил-фосфатидилхолин	POPC	226
Диолеил-фосфатидилэтаноламин	DOPE	42
Дипальмитоил- фосфатидилэтаноламин	DPPE	72
Пальмитоил-олеил-фосфатидилэтанол-ами	POPE	56
Диолеил-фосфатидилсерин	DOPS	14
Дипальмитоил- фосфатидилсерин	DPPS	12
Пальмитоил-олеил-фосфатидилсерин	POPS	14
Дипальмитоил-фосфоинозитол	DPPI	34
Пальмитоил-олеил-фосфоинозитол	POPI	52
Дипальмитоил-сфингомиелин	DPSM	184
Пальмитоил-олеил-сфингомиелин	POSM	98
Холестерин	CHOL	534
Вода	–	49972
Ион Na ⁺	–	126

Таблица 2. Состав моделируемой системы «липосома-циннаризин-клеточные мембраны»

Компонент	Сокращенное название	Количество молекул
Дилинолеоил-фосфатидилхолин	DIPC	714
Диолеил-фосфатидилхолин	DOPC	156
Дипальмитоил-фосфатидилхолин	DPPC	736
Пальмитоил-олеил-фосфатидилхолин	POPC	681
Диолеил-фосфатидилэтанолламин	DOPE	84
Дипальмитоил-фосфатидилэтанолламин	DPPE	144
Пальмитоил-олеил-фосфатидилэтаноллами	POPE	112
Диолеил-фосфатидилсерин	DOPS	28
Дипальмитоил-фосфатидилсерин	DPPS	24
Пальмитоил-олеил-фосфатидилсерин	POPS	28
Дипальмитоил-фосфоинозитол	DPPI	68
Пальмитоил-олеил-фосфоинозитол	POPI	104
Дипальмитоил-сфингомиелин	DPSM	368
Пальмитоил-олеил-сфингомиелин	POSM	196
Холестерин	CHOL	1068
Вода	-	213136
Ион Na+	-	126
Ион Cl-	-	250
Циннаризин -катион	-	125

Таблица 3. Этапы моделирования системы «липосома-циннаризин-клеточные мембраны»

Этап	Тип запуска	Количество шагов	Шаг, фс	Длительность, нс	Баростат/тензиостат	Термостат
1	Оптимизация геометрии	10000				
2	Молекулярная динамика	2000000	0.5	1	Берендсена, полуизотропный, 1 атм по z и 1 атм. по x и y, константа времени 6 пс	Масштабирование скоростей, константа времени 1 пс, температура 310 К
3	Молекулярная динамика	5000000	1	5	Берендсена, полуизотропный, 1 атм. по z и 1 атм по x и y, константа времени 6 пс	Масштабирование скоростей, константа времени 1 пс, температура 310 К
4	Молекулярная динамика	200000000	4	800	Берендсена, полуизотропный, 1 атм. по z и 1 атм. по x и y, константа времени 6 пс	Нозе-Гувера, константа времени 5 пс, температура 310 К

3. Результаты и обсуждение

Результаты моделирования с указанием расстояния между мембранами приведены в табл. 4.

В табл. 5 приведены пространственные структуры состояний исследуемой системы в течение 700 наносекунд моделирования молекулярной динамики после термодинамического уравнивания для системы с наименьшим расстоянием между мембранами (3.8 нм). При расстоянии между мембранами 3.8 нм происходит слияние липосомы с клеточной мембраной.

Слияние начинается с адгезии липосомы на поверхности клеточной мембраны (200 нс) и образования перемычки между липосомой и клеточной мембраной (300–400 нс). Далее происходит полуслияние липосомы с клеточной мембраной – объединение внешних слоев мембран липосомы и клетки (700 нс).

4. Выводы

1. По результатам моделирования крупнозернистой молекулярной динамики липосома из

Таблица 4. Моделирование молекулярной динамики системы «липосома-циннаризин-клеточные мембраны» при различном расстоянии между мембранами

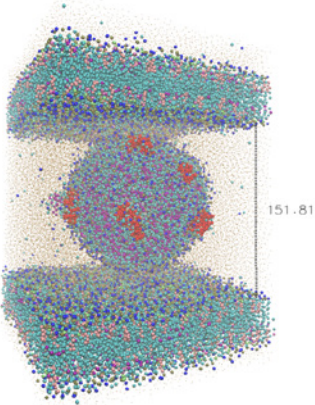
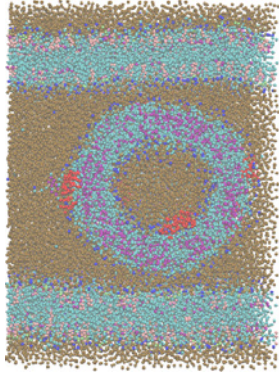
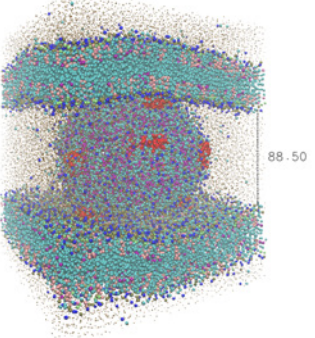
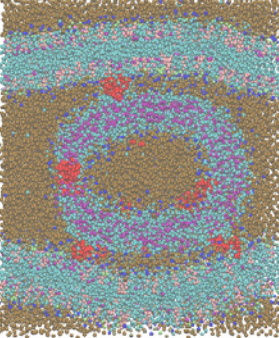
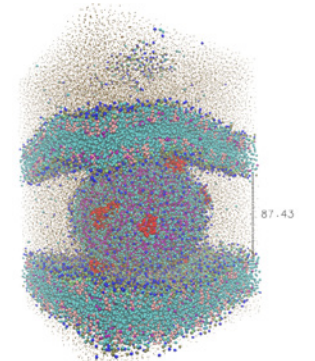
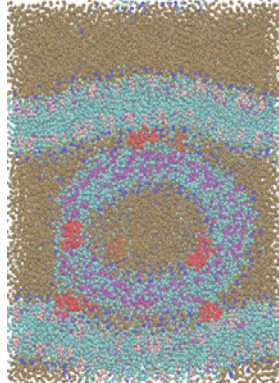
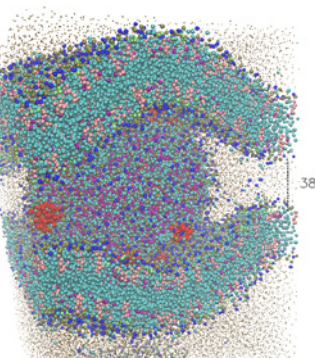
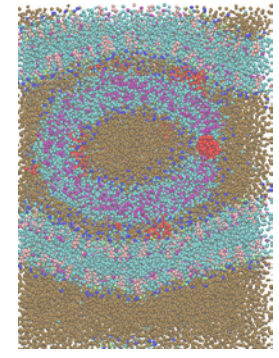
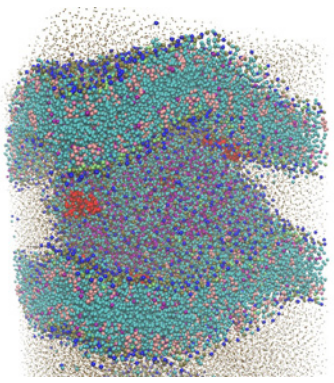
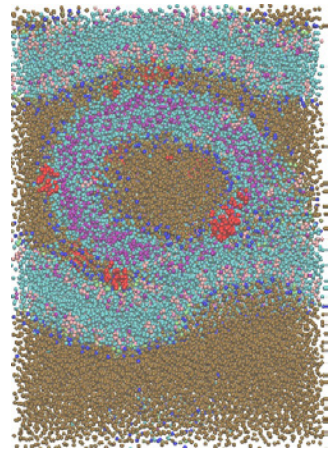
Расстояние между мембранами, нм	Состояние системы	
15.2		
8.9		
8.7		
3.8		

Таблица 5. Моделирование молекулярной динамики системы «липосома-циннаризин-клеточные мембраны» для системы с расстоянием между мембранами 3.8 нм

Время, нс	Состояние системы	
	1	2
100		
200		
400		
600		

Окончание табл. 5

700		
-----	---	--

очищенного соевого лецитина с циннаризином адсорбированным на ее внутренней и внешней поверхности способна сохранять целостность, находясь между мембранами эндотелиоцитов при расстоянии между мембранами более 8 нм.

2. Результаты моделирования крупнозернистой молекулярной динамики так же показывают, что при расстоянии между мембранами эндотелиоцитов менее 8 нм липосома с циннаризином, находящаяся между эндотелиоцитами, может терять структурную целостность за счёт слияния с мембраной эндотелиоцита.

Конфликт интересов

Автор заявляет, что у него нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Список литературы

- Hou G., Niu J., Song F., Liu Z., Liu S. Studies on the interactions between ginsenosides and liposome by equilibrium dialysis combined with ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 2013;923–924: 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.01.035>
- Сариев А. К., Абаимов Д. А., Сейфулла Р. Д. Проблема повышения биодоступности лекарственных средств методами нанофармакологии: фармакокинетика липосомальных препаратов. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010;11: 34–38. <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2010-73-11-34-38>
- Камчатнов П. Р., Сальникова Г. С., Михайлова Н. А. Хронические расстройства мозгового кровообращения и возможности их фармакологической коррекции. *Журнал неврологии и психиатрии*

им. С. С. Корсакова. 2012;112(6): 72–75. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17912111>

4. Долгова И. Н., Стародубцев А. И. Хроническая цереброваскулярная патология у пациентов молодого возраста. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2011;1: 26–29. Режим доступа: <https://med-click.ru/uploads/files/docs/hronicheskaya-tserebrovaskulyarnaya-patologiya-u-patsientov-molodogo-vozrasta.pdf>

5. Glukhova O. E. Liposome drug delivery system across Endothelial plasma membrane: Role of distance between Endothelial cells and blood flow rate. *Molecules*. 2020;25: 1875. <https://doi.org/10.3390/molecules25081875>

6. Jo S., Kim T., Iyer V.G., Im W. CHARMM-GUI: A Web-based Graphical User Interface for CHARMM. *Journal of Computational Chemistry*. 2008;29: 1859–1865. <https://doi.org/10.1002/jcc.20945>

7. Qi Y., Ingólfsson H. I., Cheng X., Lee J., Marink S. J., Im W. CHARMM-GUI Martini Maker for Coarse-Grained Simulations with the Martini Force Field. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2015;1: 4486–4494. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00513>

8. Tian Y., Shen S, Gu L., Zhou J., Li Y., Zheng X. Computer-aided design of glucoside brain-targeted molecules based on 4PYP. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. 2021;103: 107819. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2020.107819>

9. Dar K. B., Bhat A. H., Amin S., ... Ganie S. A. Modern computational strategies for designing drugs to curb human diseases: a prospect. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2018;18(31): 2702–2719. <https://doi.org/10.2174/1568026619666190119150741>

10. Scholtz A. W., Hahn A., Stefflova B., ... Weishaar G. Efficacy and safety of a fixed combination of Cinnarizine 20 mg and Dimenhydrinate 40 mg vs Betahistine Dihydrochloride 16 mg in patients with

peripheral vestibular vertigo: a prospective, multinational, multicenter, double-blind, randomized, non-inferiority clinical trial. *Clinical Drug Investigation*. 2019;39(11): 1045–1056. <https://doi.org/10.1007/s40261-019-00858-6>

11. Ivanova L., Nikolov R., Tsikalova P., Nikolova M. Experimental rheoencephalographic studies on the effect of the cinnarizin analogue As2 on cerebral circulation. *Acta Physiol Pharmacol Bulg.* 1979;5(2): 47–52.

12. Asadi P., Zia Ziabari S. M., Majdi A., Vatanparast K., Naseri Alavi S. A. Cinnarizine/betahistine combination vs. the respective monotherapies in acute peripheral vertigo: a randomized triple-blind placebo-controlled trial. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2019;75(11): 1513–1519. <https://doi.org/10.1007/s00228-019-02741-x>

13. Sethi S., Mangla B., Kamboj S., Rana V. A. QbD approach for the fabrication of immediate and prolong buoyant cinnarizine tablet using polyacrylamide-g-corn fibre gum. *International Journal of Biological Macromolecules* 2018;117: 350–361. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.178>

14. Maghsoodi M., Nokhodchi A., Oskuei M. A., Heidari S. Formulation of Cinnarizine for stabilization of its physiologically generated supersaturation. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20(3): 139. <https://doi.org/10.1208/s12249-019-1338-7>

15. Wang X., Liu W., Du K. Palaeontological evidence of membrane relationship in step-by-step membrane fusion. *Molecular Membrane Biology*. 2011;28: 115–122. <https://doi.org/10.3109/09687688.2010.536169>

16. Hsu P.-C., Bruininks B. M. H., Jefferies D., ... Im W. CHARMM-GUI Martini Maker for modeling and simulation of complex bacterial membranes with lipopolysaccharides. *Journal of Computational Chemistry*. 2017;15: 38(27):2354–2363. <https://doi.org/10.1002/jcc.24895>

17. van Hoogevest P., Wendel P. A. The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2014;116: 1088–1110. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400219>

18. Marrink S. J., Risselada H. J., Yefimov S., Tieleman D. P., de Vries, A. H. The MARTINI force field: Coarse grained model for biomolecular simulations. *Journal of Physical Chemistry B*. 2007;111: 7812–7824. <https://doi.org/10.1021/jp071097f>

19. Berendsen H. J. C., Postma J. P. M., van Gunsteren W. F., Di Nola A., Haak J. R. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of Chemical Physics*. 1984;81(8): 3684–3690. <https://doi.org/10.1063/1.448118>

20. Cansella M., Gouygoub J.-P., Jozefonvicza J., Letourneura D. Lipid composition of cultured endothelial cells in relation to their growth. *Lipids*. 1997;32: 39–44. <https://doi.org/10.1007/s11745-997-0006-3>

Информация об авторах

Полковникова Юлия Александровна, к. фарм. н., доцент кафедры фармацевтической технологии и фармацевтической химии фармацевтического факультета, Воронежский государственный университет (Воронеж, Российская Федерация).

<https://orcid.org/0000-0003-0123-9526>
juli-polk@mail.ru

Поступила в редакцию 12.09.2022; одобрена после рецензирования 10.10.2022; принята к публикации 15.10.2022; опубликована онлайн 25.03.2023.