РАДИАЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ. РАДИОЭКОЛОГИЯ, 2021, том 61, № 5, с. 460–470

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

УДК 616.006:577.344:57.085

# ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ НАКОПЛЕНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА – ЛИПОСОМАЛЬНОГО БОРИРОВАННОГО ХЛОРИНА Е6 – В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ТИПОВ

© 2021 г. О. Б. Абрамова<sup>1,\*</sup>, В. В. Дрожжина<sup>1</sup>, Е. А. Береговская<sup>1</sup>, Т. П. Чурикова<sup>1</sup>, М. А. Каплан<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал НМИЦ радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

\**E-mail: olyabramova@gmail.com* Поступила в редакцию 10.09.2020 г. После доработки 21.04.2021 г. Принята к публикации 28.04.2021 г.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является эффективным методом лечения поверхностных злокачественных опухолей. Важное значение для проведения ФДТ имеет определение лекарственно-временно́го интервала (времени от введения фотосенсибилизатора (ФС) до облучения опухоли лазером). Для этой цели была изучена фармакокинетика уровня накопления ФС липосомального борированного хлорина еб в опухолях после его парентерального введения (внутрибрюшинного и внутривенного). В качестве экспериментальных моделей опухолей служили: саркома М-1 и альвеолярный рак печени РС-1 крыс, меланома В16 и карцинома Эрлиха мышей, которые перевивали подкожно в область бедра животных. Исследования проводили с помощью лазерной флуоресцентной установки ЛЭСА-01-"Биоспек" (Россия). В результате исследований были определены оптимальные сроки проведения ФДТ.

Ключевые слова: саркома М-1, альвеолярный рак печени РС-1, меланома В16, карцинома Эрлиха, фотосенсибилизатор, фармакокинетика накопления

DOI: 10.31857/S0869803121040032

Проблема борьбы со злокачественными новообразованиями остается приоритетной для современного общества. Фотодинамическая терапия (ФДТ) является одним из наиболее перспективных методов полной эрадикации целого ряда солидных злокачественных новообразований. Метод основан на применении лазерного излучения и фотосенсибилизаторов (ФС), обладающих двумя основными свойствами: чувствительностью к свету с определенной длиной волны, под воздействием которого происходит фотохимическая реакция: и способностью избирательно накапливаться в некоторых клетках. Это клетки злокачественных опухолей (или же диспластические клетки, наличие которых может свидетельствовать о предраковом состоянии органа или ткани). В результате облучения образуются синглетный кислород и другие высокоактивные окислители. оказывающие деструктивное действие на злокачественные клетки. Фотохимические реакции индуцируют выделение медиаторов, вызывающих местную воспалительную реакцию. Следствием являются окклюзия сосудов опухоли и индуцированная цитотоксическая активность клеток воспаления в отношении опухолевых клеток. Важную роль в элиминации опухоли играет не только прямое цитотоксическое действие продуктов фотохимических реакций, но также остановка кровоснабжения за счет разрушения сосудов, что стимулирует цитокиновые реакции с активацией лимфоцитов, нейтрофилов и макрофагов. Разрушение клеток новообразования и эндотелия сосудов в процессе ФДТ запускает механизм развития противоопухолевого иммунного ответа. Тромбоз сосудов стромы опухолевого узла приводит к геморрагическому некрозу опухоли с постепенной резорбцией и замещением ее соединительной тканью [1–5].

Прогресс противоопухолевой ФДТ связан с созданием эффективных ФС, обеспечивающих терапевтический эффект при минимальном повреждении здоровых тканей, высокую избирательность накопления в опухоли, быстрое выведение из нормальных тканей и отсутствие общетоксического действия. В качестве перспективных ФС, обладающих высокой фотодинамической актив-



**Рис. 1.** Структурная формула борированного хлорина e6 (БХ e6). **Fig. 1.** The structural formula of boronfted chlorin e6 (BCh e6).

ностью в красной области спектра, рассматриваются хлорины [6–8]. Разрабатываются новые лекарственные формы хлориновых  $\Phi C$  – липосомальные  $\Phi C$  с повышенной внутриклеточной доставкой за счет слияния с мембранами опухолевых клеток, что увеличивает эффективность  $\Phi Д T$  [9–13]. Существующие  $\Phi C$  обладают хорошими фотоактивными качествами, однако использование их ограничено глубиной проникновения света в ткани. Нами проведены исследования  $\Phi C$  липосомального борированного хлорина еб (ЛБХ еб), полученного на основе препарата борированного хлорина еб (БХ еб).

Данные препараты могут использоваться для более глубокого воздействия на опухоль, позволяя проводить ФДТ и при необходимости дополнить ее нейтрон-захватной терапией (НЗТ). В препарат хлорина еб был введен бор и, таким образом, он приобрел нейтрон-захватные свойства, также при модификации ФС путем присоединения борных кластеров существенно оптимизировались свойства противоопухолевого препарата. Механизм действия борированных производных хлорина е6 глубокое проникновение в липидный бислой мембраны клеток и, благодаря свойствам борного полиэдра, обеспечение необратимого повреждения опухолевых клеток за счет индукции первичного некроза. Как показал патентный поиск, такой препарат был синтезирован впервые. А предварительные экспериментальные исследования свидетельствовали о его хороших фотоактивных свойствах и низкой токсичности. Поэтому на текущий момент у препарата нет конкурентов [14–19].

Для более эффективного проведения ФДТ была изучена фармакокинетика тканевого распределения ФС (в опухоли и здоровой ткани бедра) с помощью спектрального анализа. Этот метод позволяет количественно определить степень накопления сенсибилизатора в тканях *in vivo* и контролировать параметры ФДТ во время самой процедуры. Основным преимуществом метода спектрального анализа тканей *in vivo* является его неинвазивность. Это позволяет получать информацию о состоянии тканей, не оказывая влияния на различные биологические процессы [20–22].

Цель исследования — изучение уровня накопления ФС в опухоли и здоровой ткани бедра, а также оценка индекса контрастности (ИК) (опухоль/здоровая ткань) для определения оптимального времени проведения ФДТ экспериментальных опухолей различных морфологических типов для получения максимального противоопухолевого эффекта.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Борированный хлорин е6 был синтезирован в институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН (рис. 1, рис. 2).

Новая лекарственная форма липосомальный борированный хлорин еб была разработана и синтезирована в ГОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова на кафедре фармацевтической технологии и фармакологии как мембраноактивный ФС на основе борированного хлорина еб для ФДТ опухолей (рис. 3).

Липосомальная форма состав: борхлорин/лецитин 1 : 200 и лецитин/холестерин 3 : 1, который обеспечивал включение борхлорина на уровне 99%, ПЭГ-ДГФА, приемлемый размер липосом

том 61 № 5 2021



**Рис. 2.** Спектр флуоресценции борированного хлорина e6 (БХ e6). **Fig. 2.** Fluorescence spectrum of boronated chlorin e6 (BCh e6).



**Рис. 3.** Спектр флуоресценции липосомального борированного хлорина еб ЛБХ еб). **Fig. 3.** Fluorescence spectrum of liposomal boranated chlorin e6 (LBCh e6).

 $185 \pm 10$  нм и значение pH 6.9. В качестве растворителя для гидратации липидной пленки использовали воду для инъекций, раствор криопротектора (раствор сахарозы при молярном соотноше-

нии лецитин: сахароза 1 : 5) и изотонический раствор натрия хлорида.

Животные для исследований получены из питомника лабораторных животных ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (филиал "Андреевка"). Они были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья, и прошли 14-суточный карантин в виварии МРНЦ им. А.Ф. Цыба. Все экспериментальные работы с лабораторными животными выполнены в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными, на основе стандартных операционных процедур, принятых в МРНЦ им. А.Ф. Цыба, которые соответствуют правилам Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для научных целей.

Штаммы опухолевых клеток были получены из Банка опухолей ГУРОНЦ им. Н.Н. Блохина РАН. В качестве экспериментальных моделей опухолей использовали: саркому М-1 (62 особи) и альвеолярный рак печени РС-1 (42 особи) крыс, меланому В16 (183 особи) и карциному Эрлиха (87 особей) мышей.

Саркома М-1 — соединительнотканная опухоль, относится к числу быстрорастущих с достаточно коротким инкубационным периодом, не превышающим 5—7 дней. Опухоль характеризуется большой биомассой и высокой степенью перевиваемости (97%). Исследования опухолей саркома М-1 проведены на аутбредных крысах массой 150—180 г в возрасте 3 мес. Перепассаж опухолей осуществляли подкожно в область бедра кусочками опухоли донора и на 7—9-й день (диаметры опухоли 0.8—1.0 см) проводили изучение уровня накопления ФС в опухоли и здоровой ткани бедра.

Альвеолярный рак печени PC-1 — первичная опухоль имела строение гепатомы и холангиомы. Прививаемость опухоли составляет 100%. Опухоль растет медленно. Исследования опухолей PC-1 проведены на аутбредных крысах массой 150—180 г в возрасте 3 мес. Перепассаж опухолей осуществляли подкожно в область бедра кусочками опухоли донора и на 11—13-е сутки (диаметры опухоли 1.0—1.1 см) проводили оценку уровня накопления ФС в опухоли и здоровой ткани бедра.

Меланома – самая агрессивная форма среди злокачественных опухолей кожи, обладающая способностью к раннему метастазированию. Клеточная популяция опухоли гетерогенна и включает как сильно пигментированные участки, так и фрагменты с незначительным содержанием или полным отсутствием меланина. Метастазирует в легкие (60-90%), в остальных случаях – в печень, селезенку. Для перевивной меланомы В16 характерны короткий инкубационный период, быстрый рост и типичное метастазирование. Штамм поддерживается на мышах-самках линии C57Bl/6j. Исследования с меланомой В16 проводили на мышах F1 – гибридах линий CBA × C57BL/6j, массой 20 г в возрасте 3–4 мес. Опухоль перевивали в виде суспензии опухолевой ткани в объеме 0.100.15 мл, опыт проводили на животных с диаметром опухоли 4–6 мм.

Карцинома Эрлиха — перевиваемость опухолевых клеток КЭ — составляет 100%. По гистологическому строению — это недифференцированная опухоль, утратившая эпителиальный характер. Опухоль Эрлиха существует в виде двух форм штамма: солидного и асцитного, исследование с карциномой Эрлиха проводили на беспородных мышах. Асцитическую жидкость по 0.05 мл вводили подкожно в область бедра, для воспроизведения солидной опухоли. Опыт проводили на 4-й день с диаметром опухоли 0.5—0.6 см.

Оценку концентрации липосомального борированного хлорина еб в опухоли и здоровой ткани бедра проводили на лазерной электронно-спектральной установке ЛЭСА-01-"Биоспек" (Россия).

Проведение данного исследования необходимо для определения лекарственно-светового интервала (ЛСВИ) (время от момента введения  $\Phi C$ до облучения лазером), который позволяет проводить лечение на высоком уровне накопления  $\Phi C$  в опухоли при минимальной концентрации его в нормальной ткани (при максимальном индексе контрастности).

По интенсивности флюоресценции в у. ед. оценивали уровень накопления  $\Phi C$ . Шерстный покров в области измерений депилировали. У животных измеряли спектры в опухоли и здоровой ткани бедра в различные сроки: до введения  $\Phi C$  (0 ч), затем через определенные промежутки времени (в ряде исследований до полного выведения из тканей животного). Для определения селективности накопления  $\Phi C$  в опухоли рассчитывали индекс контрастности (ИК) (опухоль/здоровая ткань).

Саркома М-1. Для изучения фармакокинетики ФС вводили крысам интраперитонеально в дозе 5.0 мг/кг. Измерения проводили до введения препарата (0 ч), затем через каждые 0.5 ч до 4.0 ч и далее с интервалом в 24 ч до 240 ч после введения.

*PC-1.* ФС вводили крысам внутрибрюшинно в дозе 2.5 мг/кг. Измерения уровня концентрации препарата проведены — до введения (0 ч), затем с интервалом 0.5 ч до 4.5 ч и затем через 24 и 48 ч после введения.

*Меланома В16.* Мышам ФС вводили интраперитонеально в дозе 2.5 мг/кг. Первое измерение — до введения (0 ч), затем через 0.5 ч и до 4.0 ч и через 24; 48; 96 и 120 ч после введения.

*Карцинома Эрлиха*. ФС вводили мышам внутрибрюшинно и внутривенно в дозах 2.5 мг/кг.

*Внутрибрюшинное введение* — измерение проводили до введения препарата (0 ч), затем через каждые 15мин до 3.5 ч и через 24 ч после введения.



**Рис. 4.** Динамика уровня накопления и индекса контрастности липосомального борированного хлорина e6 в опухолевой и здоровой тканях крыс с саркомой M-1 после его внутрибрюшинного введения в дозе 5.0 мг/кг массы животного. **Fig. 4.** Dynamics of the level of accumulation and contrast index of liposomal boronated chlorin e6 in tumor and healthy tissues of rats with M-1 sarcoma after its intraperitoneal injections at a dose of 5.0 мg/kg of animal weight.

*Внутривенное введение* — измерение до введения препарата (0 ч) и с интервалом 15 мин до 3.0 ч, а затем через 24; 96; 120 и 144 ч после введения ФС.

Статистическую обработку результатов исследований проводили в компьютерной программе "Statistica" непараметрическими методами для независимых групп (описательная статистика, значимость различий признаков). Статистическая значимость различий сравниваемых признаков в группах проводилась с помощью непараметрического метода U теста Манна–Уитни (Mann–Whitney U test). Различия считались статистически значимыми при уровне p < 0.05.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Саркома М-1.* Из данных, представленных на рис. 4, видно, что в течение 4 ч после введения ФС происходит постепенное увеличение уровня накопления его как в опухоли, так и в здоровой ткани.

При проведении статистического анализа выявлен высокий уровень достоверности накопления ФС в опухолевой ткани (p < 0.010) с 2 до 4 ч по сравнению с исходными величинами (собственная флуоресценция биологических тканей), который сохранялся до 48 ч. Высокая концентрация препарата отмечалась и в здоровой ткани на те же сроки (p < 0.05). Максимальный уровень накопления ФС в опухоли наблюдался через 3.5—4.0 ч после введения (интенсивность флюоресценции в эти сроки в опухолевой ткани от 4.7 до 5.0 у. ед.). Затем концентрация ФС снижается — через 240 ч интенсивность флюоресценции в опухолевой ткани заметно снижена и почти равна исходной величине. Индекс контрастности (ИК) самый высокий 1.25 мы наблюдали через 3.5 ч (p < 0.05).

Уровень высокого и максимального накопления препарата в опухоли и самый высокий индекс контрастности наблюдали через 3–3.5 ч, в связи с этим сделан вывод, что данный ЛСВИ является оптимальным для проведения лазерного облучения. Практически полное выведение ФС из опухолевой и здоровой тканей бедра животных наступает через 240 ч.

И, хотя заметной селективности препарата в опухолевой ткани мы не получили на протяжении всего срока исследования, при проведении ФДТ в оптимальные сроки, которые были определены под контролем на приборе ЛЭСА, а также при подборе доз ФС и параметров лазерного облучения, получен максимальный противоопухолевый эффект (полная регрессия опухоли у 100% животных на 21-е сутки после ФДТ) [23, 24].

464





**Fig. 5.** Dynamics of the level of accumulation and contrast index of liposomal boronated chlorin e6 in the tumor and healthy tissue of rats with RC-1 alveolar liver cancer after intraperitoneal injections at a dose of 2.5 mg/kg of animal weight.

*PC-1*. Постепенное увеличение уровня накопления ФС в опухоли и в здоровой ткани бедра наблюдалось в течение 4 ч после его введения (рис. 5). Статистическим анализом выявлен высокий уровень достоверности накопления ФС в опухолевой ткани (p < 0.001) по всем срокам исследования, но высокая концентрация препарата была отмечена и в здоровых тканях на те же сроки (p < 0.010). Максимальный уровень накопления ФС в опухоли наблюдался через 4.0 ч. Затем отмечалось незначительное снижение и через 24 и 48 ч снижение уровня концентрации препарата от максимального накопления составило 87 и 76% соответственно. Что касается ИК, то самый высокий (1.13) наблюдался через 2.5 ч, хотя достоверного уровня селективности ФС по всем срокам исследования не было выявлено. Таким образом, оптимальное время проведения лазерного облучения после введения ФС наступает через 2.5-4т.е. в это время мы имеем высокое накопление ФС в опухоли и малое его накопление в здоровой ткани.

При проведении ФДТ в оптимальные сроки, определенные фармакокинетикой накопления ФС, также при подборе доз ФС и параметров лазерного облучения, был получен максимальный противоопухолевый эффект до 21 сут после ФДТ [25]. *Меланома В16.* В течение 3 ч после введения ФС наблюдалось заметное увеличение уровня накопления его в опухоли (рис. 6).

Через 2–3 ч уровень флюоресценции достигал 5-кратных значений по сравнению с исходным уровнем. В здоровой ткани наблюдалось незначительное увеличение концентрации ФС. Статистическим анализом выявлен высокий уровень достоверности накопления ФС в опухолевой ткани (p < 0.001) с 0.5 до 48 ч. Через 3 ч концентрация ФС в опухоли начинала незначительно снижаться и держалась примерно на одном уровне до 24 ч. Мы получили достоверную селективность в опухолевой ткани по всем срокам исследования (ИК от 1.5 до 2.8).

Уровень высокого и максимального накопления препарата в опухоли и самый высокий индекс контрастности наблюдали через 1.5—3 ч, в связи с этим сделан вывод, что данный ЛСВИ является оптимальным для проведения лазерного облучения. Практически полное выведение ФС из опухолевой и здоровой тканей бедра мышей наступает через 120 ч.

При проведении ФДТ в оптимальные сроки получен максимальный противоопухолевый эффект до 21 сут после терапии [26].



**Рис. 6.** Динамика уровня накопления и индекса контрастности липосомального борированного хлорина еб в опухоли и здоровой ткани мышей с меланомой B16 после внутрибрюшинного введения в дозе 2.5 мг/кг массы животного. **Fig. 6.** Dynamics of the level of accumulation and contrast index of liposomal boronated chlorin e6 in the tumor and healthy tissue of mice with B16 melanoma after intraperitoneal injections at a dose of 2.5 mg/kg of animal weight.



**Рис. 7.** Динамика уровня накопления и индекса контрастности липосомального борированного хлорина еб в опухоли и здоровой ткани мышей с карциномой Эрлиха после внутрибрюшинного введения в дозе 2.5 мг/кг массы животного. **Fig. 7.** Dynamics of the accumulation level and contrast index of liposomal boronated chlorin e6 in the tumor and healthy tissue of mice with Ehrlich carcinoma after intraperitoneal injections at a dose of 2.5 mg/kg of animal weight.



**Рис. 8.** Динамика уровня накопления и индекса контрастности липосомального борированного хлорина еб в опухоли и здоровой ткани мышей с карциномой Эрлиха после внутривенного введения в дозе 2.5 мг/кг массы животного. **Fig. 8.** Dynamics of the accumulation level and contrast index of liposomal boronated chlorin e6 in the tumor and healthy tissue of mice with Erlich carcinoma after intravenous injections at a dose of 2.5 mg/kg of animal weight.

#### Карцинома Эрлиха

Внутрибрюшинное введение. В течение 3.5 ч после внутрибрюшинного введения ФС наблюдалось постепенное увеличение накопления препарата в опухоли и здоровой ткани бедра (рис. 7).

Уровень достоверности накопления  $\Phi C$  в опухолевой ткани составил по сравнению с исходными величинами (собственная флуоресценция биологических тканей) (p < 0.050) через 45 мин и до 3.5 ч. Мы не получили высокой селективности накопления препарата в опухолевой ткани по всем срокам исследования. Самый высокий ИK == 1.4 отмечался через 1 ч 15 мин – 1.5 ч.

Таким образом, оптимальное время проведения лазерного облучения после внутрибрюшинного введения липосомального борированного хлорина еб в дозе 2.5 мг/кг наступает через 1-2.5 ч, предпочтительно через 1 ч 15 мин — 1.5 ч (ИК достигает своего максимального значения). На 21-е сутки после ФДТ у 80% животных наблюдалась полная регрессия опухоли. При данных параметрах проведения терапии процент излеченных животных составил 80% на 90-е сутки после ФДТ.

Внутривенное введение. Из данных, представленных на рис. 8, видно, что через 30 мин после внутривенного введения липосомального борированного хлорина еб в дозе 2.5 мг/кг происходит резкое увеличение уровня накопления  $\Phi C$  как в опухоли, так и в здоровой ткани, и через 1.5 ч концентрация  $\Phi C$  начинает снижаться. Максимальная концентрация  $\Phi C$  в опухоли наблюдалась через 30 мин — 1 ч 15 мин после введения (p < 0.001по сравнению с исходными величинами), что касается индекса контрастности, то самый высокий (1.15) мы наблюдали через 1 ч 15 мин.

Таким образом, оптимальное время проведения лазерного облучения после внутривенного введения липосомального борированного хлорина еб в дозе 2.5 мг/кг наступает через 30 мин — 1 ч 15 мин, когда наблюдается высокое накопление ФС в опухолевой ткани и низкое — в здоровой ткани (когда индекс контрастности достигает своего максимального значения). При проведении ФДТ получен максимальный противоопухолевый эффект на 21-е сутки после ФДТ (эрадикация опухоли у 100% животных) [28].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования фармакокинетики ФС липосомального борированного хлорина е6 в опухолевой и здоровой тканях бедра животных с различными морфологическими типами

том 61 № 5 2021

опухолей показало, что ФС хорошо накапливается и быстро элиминируется из тканей. Были установлены оптимальные сроки лазерного облучения — лекарственно-световой интервал. Данный фактор наравне с другими (доза ФС, плотность мощности и плотность энергии лазерного излучения) является важной частью проведения эффективной терапии. В результате был достигнут максимальный противоопухолевый эффект на всех представленных для исследования опухолях.

При проведении ФДТ в оптимальные сроки, которые были определены под контролем на приборе ЛЭСА, а также при подборе доз ФС и параметров лазерного облучения получен максимальный противоопухолевый эффект (полная регрессия опухоли у 100% животных на 21-е сутки после ФДТ):

- саркома M-1 крыс на малой дозе  $\Phi C 2.5 \text{ мг/кг}$ и невысоких параметрах лазерного воздействия (плотность энергии E = 150 Дж/см<sup>2</sup>; плотность мощности лазерного излучения Ps = 0.25 Bт/см<sup>2</sup>) [22, 24];

– альвеолярный рак печени PC-1 крыс – в дозе 5.0 мг/кг, при параметрах  $E = 150 \text{ Дж/см}^2$  и Ps =  $= 0.25 \text{ Вт/см}^2$  лазерного излучения [26];

– меланома B16 мышей – при дозе ФС 10 мг/кг с последующим облучением опухоли при световой дозе 300 Дж/см<sup>2</sup> и плотности мощности 0.44 Вт/см<sup>2</sup> [27].

– карцинома Эрлиха мышей – внутрибрюшинное введение ФС – при дозе ФС 2.5 мг/кг, при плотности энергии 100 Дж/см<sup>2</sup> и плотности мощности 0.51 Вт/см<sup>2</sup> лазерного излучения; внутривенное введение ФС – при дозе ФС 1.25 мг/кг и облучением опухоли световой дозой 150 Дж/см<sup>2</sup> при плотности мощности 0.51 Вт/см<sup>2</sup> [28].

Изученный фотосенсибилизатор перспективен для дальнейших испытаний в качестве высокоэффективного клинического препарата.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Allison R.R. Photodynamic Therapy: PDT Mechanisms / R.R. Allison, K. Moghissi // Clin. Endosc. 2013. V. 46. P. 24–29.
- 2. Странадко Е.Ф. Основные этапы развития и современное состояние ФДТ в России // Рос. биотерап. журн. 2012. Т. 11. № 2. С. 51. [Stranadko E.P. The main stages of development and the current state of PDT in Russia // The Russian Biotherapeutic Journal. 2012. V. 11. № 2. P. 51. (In Russian)]
- Yakubovskaya R.I., Morozova N.B., Pankratov A.A. et al. Experimental photodynamic therapy: 15 years of development // Rus. J. Gen. Chemi. 2015. V. 85. № 1. P. 217–239.
- Филоненко Е.В. Флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия – обоснование применения и возможности в онкологии // Фотодинам.

терапия и фотодиагностика. 2014. Т. З. № 1. С. 3–7. [*Filonenko E.V.* Fluorescence diagnostics and photodynamic therapy: justification of applications and opportunities in oncology // Photodynamic therapy and photodyagnosis. 2014. V. 3. № 1. Р. 3–7. (In Russian)]

- Абакушина Е.В., Романко Ю.С., Каплан М.А., Карпин А.Д. Противоопухолевый иммунный ответ и фотодинамическая терапия // Радиация и риск. 2014. Т. 23. № 4. С. 92–98. [Abakushina E.V., Romanko Yu.S., Kaplan M.A., Kaprin A.D. Anticancer immune response and photodynamic therapy // Radiatsiya i risk – Radiation and Risk. 2014. V. 23. № 4. P. 92–98. (In Russian)]
- Juan Zhang, Chengshi Jiang, João Paulo, et al. An updated overview on the development of new photosensitizers for anticancer photodynamic therapy // Acta Pharmaceutica Sinica B. 2017. Review. P. 1–10.
- 7. Лукьянец Е.А. Поиск новых фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии // Фотодинам. терапия и фотодиагностика. 2013. № 3. С. 3–16. [*Lukiyanets E.A.* Search for new photosensitizers in photodynamic therapy // Photodynamic therapy and photodiagnostics. 2013. № 3. Р. 3–16. (In Russian)]
- 8. Чан Тхи Хай Иен, Раменская Г.В., Оборотова Н.А. Фотосенсибилизаторы хлоринового ряда в фотодинамической терапии опухолей // Рос. биотерап. журн. 2009. Т. 8. № 4. С. 99–105. [*Chan Thi Hai Yen, Ramenskaya G.V., Oborotova N.A.* Chlorin Photosensitizers in the Photodynamic Therapy of Tumors // The Russian Biotherapeutic Journal. 2009. V. 8. № 4. P. 99–105. (In Russian)]
- 9. Райков А. О., Хашем А., Барышникова М.А. Липосомы для направленной доставки противоопухолевых препаратов // Рос. биотерап. журн. 2015. Т. 15. № 2. С. 90–96. [Raikov A.O., Hashem A., Baryshnikova M.A. Liposomes for the targeted delivery of antitumor drugs. // Russian Biotherapeutic Journal. 2015. V. 15. № 2. Р. 90–96. (In Russian)]
- Круглякова А.А. Особенности фармакокинетики липосомальных препаратов // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2012. № 1. С. 37– 40. [Kruglyakova А.А. Features of pharmacokinetics of liposomal drugs // Development and registration of medicines. 2012. № 1. Р. 37–40. (In Russian)]
- 11. Дмитриева М.В., Оборотова Н.А., Орлова О.Л. и др. Липосомальная лекарственная форма борхлорина // Рос. биотерап. журн. 2014. Т. 13. № 1. С. 31–36. [Dmitrieva M.V., Oborotova N.A., Orlova O.L. et al. Borchlorin liposomal dosage form // The Russian Biotherapeutic Journal. 2014. V. 13. № 1. Р. 3–16. (In Russian)]
- Ruud Weijer, Mans Broekgaarden, Milan Kos et al. Enhancing photodynamic therapy of refractory solid cancers: Combining second-generation photosensitizers with multi-targeted liposomal delivery // J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev. 2015. V. 23. P. 103–131.
- Muehlmann L.A., Joanitti G. A., Silva J. R. et al. Liposomal photosensitizers: potential platforms for anticancer photodynamic therapy // Brazil. J. Med. Biol. Res. 2011. V. 44. P. 729–737.

- Ol'shevskaya V.A., Nikitina R.G., Zaitsev A.V. et al. Boronated protohaemins: synthesis and in vivo antitumour efficacy // Organic and Biomolecular Chemistry. 2011. V. 4. № 20. P. 3815–3821.
- 15. Каплан М.А., Никитина Р.Г., Ольшевская В.А. и др. Изучение биологического действия многофункциональных комплексов конъюгатов борированных хлоринов // Тр. регионального конкурса научных проектов в области естественных наук. 2010. Вып. 15. С. 138–142. [Kaplan M.A., Nikitina R.G., Ol'shevskaya V.A. et al. Izuchenie biologicheskogo dejstviya mnogofunkcional'nyh kompleksov kon"yugatov borirovannyh hlorinov // Trudy regional'nogo konkursa nauchnyh proektov v oblasti estestvennyh nauk. 2010. Vyp. 15. S. 138–142. (In Russian)]
- 16. Antonenko Yu.N., Kotova E.A., Omarova E.O. et al. Photodynamic activity of the boronated chlorin e6 amide in artificial and cellular membranes // Biochimica et Biophysica Acta. 2014. V. 1838. № 3. P. 793–801.
- 17. Nikitina R.G., Kaplan M.A., Olshevskaya V.A. et al. Photodynamic Therapy with Boronated Chlorin as a Photosensitizer // J. Cancer Sci. Ther. Medical Radiology Center, Russian Academy of Medical Sciences, Obninsk, Russia.2011. № 9. P. 216–219.
- 18. Asano R., Nagami A., Fukumoto Y. et al.Synthesis and biological evaluation of new boron-containing chlorin derivatives as agents for both photodynamic therapy and boron neutron capture therapy of cancer // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2014. V. 24. № 5. P. 1339–1343.
- Осинчук Ю.С., Каплан М.А., Дрожжина В.В. и др. // Фотодинамическая терапия экспериментальной саркомы М-1 крыс с фотосенсибилизатором борированным хлорином // Biomedical Photonics Engineering. 2015. Т. 14. № 1. С. 11–13. [Osipchuk Yu.S., Kaplan M.A., Drozhzhina V.V., Polyakova V.A. Photodynamic therapy of experimental sarcoma M-1 rats with a boronated chlorin photosensitizer // Biomedical Photonics Engineering. 2015. V. 14. №1. Р. 11–13. (In Russian)]
- 20. Мачинская Е.А., Иванова-Радкевич В.И. Обзор механизмов селективного накопления фотосенсибилизаторов различной химической структуры в опухолевой ткани // Фотодинам. терапия и фотодиагностика. 2013. № 4. С. 19–23. [Machinskaya E.A., Ivanova-Radkevich V.I. Review of selective accumulation of photosensitizers with different chemical structure in tumor tissue // Photodynamic therapy and photodiagnostics, 2013. № 4. Р. 28–32. (In Russian)]
- Линьков К.Г., Березин А.Н., Лощенов В.Б. Аппаратура для флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии // Рос. биотерап. журн. 2014. Т. 4. № 4. С. 114–119. [Linkov K.G., Berezin V.N., Loschenov V.B. Fluorescent diagnostics and photodynamic therapy devices // The Russian Biotherapeutic Journal. 2014. V. 4. № 4. Р. 114–119. (In Russian)]
- 22. Лощенов В.Б., Линьков К.Г., Савельева Т.А. и др. Аппаратурное и инструментальное обеспечение флюоресцентной диагностики и ФДТ // Фотодинам. терапия и фотодиагностика. 2013. Т. 4. № 3. С. 17–25. [Loschenov V.B., Linkov K.G., Savelieva T.A. et al. Hardware and tool equipment for fluorescence di-

agnostics and photodynamic therapy // Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika – Photodynamic therapy and photodiagnostics. 2013.  $\mathbb{N}_{2}$  3. P. 17–25. (In Russian)]

- Осипчук Ю.С., Дрожжина В.В. Фотодинамическая терапия саркомы М-1 крыс с использованием нового фотосенсибилизатора борхлорин липосомальный лиофилизат // Рос. биотерап. журн. 2013. Т. 12. № 4. С. 47–50. [Osipchuk Yu.S., Drozhzhina V.V. Photodynamic therapy of sarcoma M-1 of rats with use of a new photosensitizer boronated chlorine lyophilized liposome // Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal – Russian Biotherapeutic Journal. 2013. V. 12. № 4. 47– 50. (In Russian)]
- 24. Дрожжина В.В., Осинчук Ю.С. Сравнительный анализ противоопухолевой активности фотосенсибилизаторов борированного хлорина и борхлорина липосомального лиофилизата после фотодинамической терапии саркомы М-1 крыс // Рос. биотерап. журн. 2014. Т. 13. № 3. С. 45–50. [Drozhzhina V.V., Osipchuk Yu.S. Comparative analysis of antitumor activity of photosensitizers of boronated chlorin and borchlorin of liposomal lyophilisate after photodynamic therapy of rat sarcoma M-1 // Russian Biotherapeutic Journal. 2014. V. 13. № 3. Р. 45–50. (In Russian)]
- 25. Каплан М.А., Галкин В.Н., Романко Ю.С. и др. Изучение эффективности фотодинамической терапии экспериментальной опухоли PC-1 с использованием липосомального фотосенсибилизатора на основе борированного хлорина еб // Радиация и риск. 2016. Т. 25. № 3. С. 57–65. [Kaplan M.A., Galkin V.N., Romanko. et Al. Study of the effectiveness of photodynamic therapy of an experimental tumor of PC-1 using a liposomal photosensitizer based on boronated chlorin e6 // Radiation and Risk. 2016. V. 25. № 3. Р. 57–65. [In Russian]
- Осинчук Ю.С., Каплан М.А., Дрожжина В.В. Фотодинамическая терапия меланомы B16 у мышей с новым фотосенсибилизатором борированным хлорином // Biomedical Photonics Engineering. 2015.
  Т. 4. № 2. С. 3–8. [Osipchuk Yu.S., Kaplan M.A, Drozhzhina V.V. Photodynamic therapy of B16 melanoma in mice with a new photosensitizer boronated chlorine // Biomedical Photonics Engineering. 2015. V. 4. № 2. P. 3–8. [In Russian)]
- Бурмистрова Н.В., Дрожжина В.В., Каплан М.А. и др. Изучение эффективности фотодинамической терапии карциномы Эрлиха с внутривенным введением фотосенсибилизатора липосомального борированного хлорина е6. // Радиация и риск. 2019. Т. 28. № 4. С. 96–107. [Burmistrova N.V., Drozhzhina V.V., Kaplan M.A. et al. Study of efficiency of photodynamictherapyof Earlich carcinoma micewith intravenous introduction of photosensibilizer of liposomal boronatedchlorine e6 // Radiation and Risk. 2019. V. 28. № 4. Р. 96–107. [In Russian]

РАДИАЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ. РАДИОЭКОЛОГИЯ том 61

## Study of the Dynamics of the Accumulation of the Photosensitizer – Liposomal Borined Chlorine e6 – in Experimental Tumors of Various Morphological Types

O. B. Abramova<sup>*a*,#</sup>, V. V. Drozhzhina<sup>*a*</sup>, E. A. Beregovskaya<sup>*a*</sup>, T. P. Churikova<sup>*a*</sup>, and M. A. Kaplan<sup>*a*</sup>

<sup>a</sup> A. F. Tsyb Medical Radiological Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia <sup>#</sup>E-mail: olvabramova@gmail.com

Photodynamic therapy (PDT) is an effective treatment for superficial malignant tumors. Of great importance for PDT is the determination of the time interval from the injections of a photosensitizer (PS) to laser irradiation. For this purpose, the pharmacokinetics of the level of PS accumulation of liposomal boronated chlorin e6 in tumors and healthy tissues of the thigh after its parenteral injections (intraperitoneal and intravenous) was studied. The experimental tumor models were: sarcoma M-1 and rat alveolar liver cancer RS-1; B16 melanoma and Ehrlich carcinoma of mice that were subcutaneously transplanted into the thigh of animals. The studies were carried out using a laser fluorescent system LESA-01- "Biospek" (Russia). Studies have determined the optimal timing of PDT.

**Keywords:** sarcoma M-1, alveolar liver cancer RS-1, melanoma B16, Ehrlich carcinoma, photosensitizer, pharmacokinetics, accumulation of photosensitizer