

УДК 616-006.3.04-092.9:615.832.3

М.А. Каплан<sup>1</sup>, А.И. Малыгина<sup>1</sup>, Г.В. Пономарев<sup>2</sup>, А.А. Михайловская<sup>1</sup>,  
В.В. Дрозжжина<sup>1</sup>, Л.М. Архипова<sup>1</sup>, Ю.С. Осипчук<sup>1</sup>

**ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР ЛИПОСОМАЛЬНЫЙ АМИДОАМИНХЛОРИН  
ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ САРКОМЫ М-1 КРЫС**

<sup>1</sup>Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России, Обнинск

<sup>2</sup>ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва

**Контактная информация**

Каплан Михаил Александрович, профессор, заведующий отделом фотодинамической диагностики и терапии

адрес: 249036 Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, 4; тел. +7(48439)9-30-26

e-mail: [kaplan@mtrc.obninsk.ru](mailto:kaplan@mtrc.obninsk.ru)

Статья поступила 04.09.2014, принята к печати 10.0.2015.

**Резюме**

В эксперименте на модели опухоли саркома М-1 изучена эффективность липосомального амидоаминхлорина как нового фотосенсибилизатора (ФС) при проведении ФДТ. Цель исследования: определить параметры минимально эффективной дозы ФС и лазерного излучения для достижения полной регрессии опухоли. Изучали динамику накопления ФС в опухоли и здоровой ткани для определения времени проведения ФДТ и противоопухолевую эффективность разных доз ФС и различных параметров лазерного излучения. В результате проведенного исследования определен оптимальный срок проведения ФДТ и установлены минимально эффективная доза ФС и параметры лазерного излучения.

**Ключевые слова:** саркома, липосомальный фотосенсибилизатор, лазер, динамика накопления.

M.A. Kaplan<sup>1</sup>, A.I. Malygina<sup>1</sup>, G.V. Ponomarev<sup>2</sup>, A.A. Mikhailovskaya<sup>1</sup>,  
V.V. Drozhzhina<sup>1</sup>, L.M. Arkhipova<sup>1</sup>, J.S. Osipchuk<sup>1</sup>

**LIPOSOMAL PHOTSENSITIZER AMIDOAMINCHLORINE  
FOR PHOTODYNAMIC THERAPY OF RAT SARCOMA M-1**

<sup>1</sup>A.F. Tsyb Medical Radiological Center of Science, Obninsk

<sup>2</sup>V.N. Orekhovich Institute of biomedical chemistry, Moscow

**Abstract**

Effectiveness of a new photosensitizer (PS) liposomal amidoaminchlorine for PDT was studied on a tumor model of rat sarcoma M-1. The research objective: to define parameters of PS minimum effective dose and laser irradiation to achieve complete regression of the tumor. Dynamics of PS accumulation in tumor and healthy tissue was studied to define the PDT time course and antitumor efficiency of different PS doses and various parameters of laser irradiation. The study results defined the optimum term for PDT and minimally effective PS dose and established the parameters for laser irradiation.

**Keywords:** sarcoma, liposomal photosensitizer, laser, dynamics of accumulation.

**Введение**

Фотодинамическая терапия – направление противоопухолевой терапии, в котором воздействие на ткань опухоли введенного фотосенсибилизатора инициируется световым излучением, поглощаемым этим фотосенсибилизатором [5; 7; 8; 14; 15; 19; 21].

В опухоли начинается фотохимическая реакция с образованием синглетного кислорода и свободных кислотных радикалов, оказывающих токсическое воздействие на опухолевые клетки.

Кроме прямого цитотоксического воздействия ФДТ на опухолевые клетки, важную роль в деструкции новообразования играют:

- нарушение кровоснабжения за счет повреждения эндотелия кровеносных сосудов опухолевой ткани;
- цитокиновые реакции, обусловленные стимуляцией продукции ФНО, активацией макрофагов, лейкоцитов и лимфоцитов.

Одной из основных задач современной онкологии является разработка новых противоопухолевых препаратов, обеспечивающих максимальное разрушение опухоли при минимальном повреждении нормальных клеток и тканей организма. В течение последнего десятилетия в ФДТ злокачественных новообразований большой интерес в качестве ФС вызывают производные ряда хлорофилла

[13; 22], а также ведутся активные работы по созданию липосомальных форм ФС, которые увеличивают эффективность ФДТ [1–4; 6; 9–12; 17; 18; 20]. Поэтому актуальной задачей является синтез препарата амидоаминхлорина (рис. 1) и разработка его новой липосомальной лекарственной формы.

Амидоаминхлорин разработан на основе взаимодействия метилфеофорбида *a* с различными первичными аминами и является химической модификацией периферических заместителей хлорина е6. Один из пиков поглощения находится на волне 662 нм, что коррелирует с высоким квантовым выходом синглетного кислорода. Концентрация фотосенсибилизатора в PBS (фосфатном буфере при pH 7,2–7,4) составляет 1,0 мг в 1 мл. Для получения водных растворов поступали следующим образом:

1. Навески хлорина и ФХ растворяли в хлороформе и рассчитанные объёмы хлороформных растворов смешивали, чтобы получить раствор конъюгат/ФХ в соотношении 1 : 5 (моль/моль).
2. Смешанные растворы упаривали досуха и растворяли в изопропанолу при 60 °С для получения стокового раствора
3. Аликвоту нагретого изопропанольного раствора впрыскивали в 10 мл PBS при +60 °С и встряхивании.

В эксперименте использовался амидоаминхлорин е6 моноадипинат в виде липосом из ФХ для создания водорастворимой формы в виде частиц размером до 200 нм и с концентрацией основного вещества – фотосенсибилизатора амидохлорина е6 – 1,0 мг/мл водного раствора. Характерной особенностью хлорина е6 является тот факт, что в зависимости от растворителя его спектральные характеристики сильно варьируют. Так, известно, что в водных средах его максимум поглощения смещается от 662 нм в коротковолновую область. Для экспериментальных исследований можно применять раствор в водном димексиде для внутрибрюшинного введения. В электронных спектрах водных липосомальных растворов наблюдались два основных пика: в области полосы Соре при длине волны 400–402 нм и длинноволновый пик при длине волны 660–665 нм.

Амидоаминхлорин может быть переведен в липосомальную форму. В липосомальной форме в воде имеет максимум поглощения длине волны 665 нм (рис. 2).

**Цель работы** – определить минимально эффективную дозу ФС и параметров лазерного излучения для достижения полной регрессии опухоли у 100 % животных (срок наблюдения 21 сутки после ФДТ).

#### **Задачи исследования:**

1. изучить динамику накопления липосомального амидоаминхлорина в опухоли и здоровой ткани;
2. изучить противоопухолевую эффективность ФДТ саркомы М-1 при разных дозах ФС липосомального амидоаминхлорина и различных параметрах лазерного излучения.

## **Материалы и методы**

Исследования проведены на 102 беспородных крысах. В качестве экспериментальной модели опухоли использовали саркому М-1 крыс, которую перевивали под кожу в область бедра в виде кусочков опухоли донора. В опыт крыс брали на 7–9 день, когда опухоль достигала 0,7–1,0 см в ø, шерстный покров депилировали. В качестве ФС использовали новый липосомальный амидоаминхлорин, который вводили внутрибрюшинно в разных дозах.

### **Изучение динамики накопления ФС в опухоли и здоровой ткани**

Для изучения динамики накопления препарат липосомальный амидоаминхлорин вводили крысам с саркомой М-1 внутрибрюшинно в дозе 2,5 мг/кг.

Уровень накопления ФС оценивали по интенсивности флуоресценции в условных единицах. Измерение уровня накопления ФС в опухолевой и здоровой тканях изучали с помощью спектрофлуоресцентного метода на комплексе ЛЭСА-01 «Биоспек», Россия. Датчики подводили к коже над опухолью и в 3 точках под прямым углом к объекту (центр, периферия 1 и периферия 2). Накопление в здоровой ткани определяли на здоровой ткани бедра с опухолью (контроль 1) и на противоположенном бедре (контроль 2). Перед измерением шерстный покров депилировали. Время экспозиции составляло 1–2 с. В различные сроки после введения ФС у каждого животного измеряли спектры опухолевой и здоровой тканей. Первое измерение проводили до введения препарата (0 ч), а затем через 20 мин; 1,0 ч; 1,5 ч; 3,0 ч; 4,0 ч и 5,5 ч.

Для суждения о селективности накопления ФС в опухоли по отношению к здоровой ткани рассчитывали индекс контрастности (опухоль/здоровая ткань).

### **Изучение параметров эффективной дозы ФС и лазерного излучения**

В опыт было взято 8 групп животных. ФДТ проводили с разными дозами ФС и различными параметрами лазерного излучения (плотность энергии (Е), плотность мощности (Ps)):

- 1 группа: доза ФС 1,0 мг/кг, Е = 75 Дж/см<sup>2</sup>, Ps = 0,34 Вт/см<sup>2</sup>;
- 2 группа: доза ФС 0,5 мг/кг, Е = 100 Дж/см<sup>2</sup>, Ps = 0,34 Вт/см<sup>2</sup>;
- 3 группа: доза ФС 0,75 мг/кг, Е = 100 Дж/см<sup>2</sup>, Ps = 0,34 Вт/см<sup>2</sup>;
- 4 группа: доза ФС 1,0 мг/кг, Е = 100 Дж/см<sup>2</sup>, Ps = 0,34 Вт/см<sup>2</sup>;
- 5 группа: доза ФС 1,25 мг/кг, Е = 150 Дж/см<sup>2</sup>, Ps = 0,34 Вт/см<sup>2</sup>;
- 6 группа: доза ФС 1,25 мг/кг, Е = 150 Дж/см<sup>2</sup>, Ps = 0,51 Вт/см<sup>2</sup>;
- 7 группа: доза ФС 2,5 мг/кг, Е = 150 Дж/см<sup>2</sup>, Ps = 0,51 Вт/см<sup>2</sup>;
- 8 группа: доза ФС 2,5 мг/кг, Е = 300 Дж/см<sup>2</sup>, Ps = 0,51 Вт/см<sup>2</sup>.

Контроль – крысы-опухоленосители без какого-либо воздействия.

В качестве контроля к эффективным дозам липосомального амидоаминхлорина также были представлены результаты исследований нелипосомальной формы амидоаминхлорина в тех же дозах ФС и параметрах лазерного излучения:

1. ФДТ (1,25 мг/кг, 150 Дж/см<sup>2</sup>, 0,51 Вт/см<sup>2</sup>);
2. ФДТ (2,5 мг/кг, 150 Дж/см<sup>2</sup>, 0,51 Вт/см<sup>2</sup>);
3. ФДТ (2,5 мг/кг, 300 Дж/см<sup>2</sup>, 0,51 Вт/см<sup>2</sup>).

Животные при облучении находились под общим тиопенталовым наркозом (внутрибрюшинно 2,5 % раствор в объеме 0,2 мл/100 г массы животного).

Источником лазерного излучения служил полупроводниковый лазерный аппарат «Аткус-2» производства ЗАО «Полупроводниковые приборы» (Санкт-Петербург) с длиной волны излучения 662±1 нм. Диаметр светового пятна составлял 1,5 см. Объем опухоли измеряли: до проведения ФДТ (V<sub>0</sub>) и на 3; 7; 10; 14 и 21 сутки (V<sub>t</sub>) после терапии. Эффективность ФДТ оценивали (по рекомендации Фармкомитета по предклинической апробации препаратов – по коэффициенту абсолютного прироста опухоли и по эффекту ингибирования роста опухоли) [16]:

Для вычисления коэффициента абсолютного прироста опухоли сначала определяли объемы опухолей по формуле:

$$V = \frac{1}{6} \pi \times d_1 \times d_2 \times d_3, \text{ где}$$

d<sub>1</sub>, d<sub>2</sub>, d<sub>3</sub> – три взаимно перпендикулярные диаметры опухоли,

V – объем опухоли в см<sup>3</sup>.

Коэффициент абсолютного прироста опухоли (K) рассчитывали по формуле:

$$K = \frac{V_t - V_0}{V_0}, \text{ где}$$

V<sub>0</sub> – объем опухоли до воздействия,

V<sub>t</sub> – объем опухоли на определенный срок наблюдения;

Торможение роста опухоли (ТРО %) вычисляли по формуле:

$$TPO = \frac{V_k - V_o}{V_k} \times 100\%, \text{ где}$$

V<sub>k</sub> – средний объем опухоли в контрольной группе,

V<sub>o</sub> – средний объем опухоли в опытной группе.

Вычисляли процент животных в группе с полной регрессией (ПР %) опухоли, за которую принимали отсутствие видимой и пальпируемой опухоли.

**Статистическую обработку результатов** исследований проводили в компьютерной про-

грамме «Statistica» непараметрическими методами для независимых групп (описательная статистика, метод U теста Манна-Уитни).

## Результаты и обсуждение

### Изучение динамики накопления ФС в опухоли и здоровой ткани

Уровень и селективность накопления ФС в опухоли, а также скорость его выведения из нормальной ткани являются важнейшими характеристиками для ФДТ. Они влияют как на эффективность метода, так и на вероятность снижения побочных эффектов.

Из данных, представленных на рис. 3, видно, что в течение 5,5 ч после внутрибрюшинного введения липосомального амидоаминхлорина в дозе 2,5 мг/кг происходит постепенное увеличение уровня накопления его как в опухоли, так и в здоровой ткани. Максимальный уровень накопления ФС в опухоли наблюдался через 4 – 5,5 ч после введения ФС. Что касается индекса контрастности, то самый высокий мы наблюдали через 4 ч.

Таким образом, оптимальное время проведения лазерного облучения после внутрибрюшинного введения липосомального амидоаминхлорина в дозе 2,5 мг/кг наступает через 4 ч, когда имеем высокое накопление ФС в опухолевой ткани и когда индекс контрастности достигает своего максимального значения.

### Изучение параметров эффективной дозы ФС и лазерного излучения

В 1 группе при дозе ФС 1,0 мг/кг, E = 75 Дж/см<sup>2</sup> и Ps = 0,34 Вт/см<sup>2</sup> лазерного излучения на 21 сут после ФДТ полная регрессия наблюдалась у 25,0 % животных. У крыс с продолженным ростом отмечалось значительное снижение темпа прироста опухоли по сравнению с контролем и это снижение достоверно значимо (p<0,001; 3,90±2,60; в контроле 65,31±7,70). ТРО на 21 сут после ФДТ составляло 88 % (табл. 1).

Во 2 группе при снижении дозы ФС до 0,5 мг/кг, но при увеличении плотности энергии лазерного излучения до 100 Дж/см<sup>2</sup> (плотность мощности оставалась 0,34 Вт/см<sup>2</sup>) на 21 сут после ФДТ полная регрессия наблюдалась уже у 55,6 % животных, но ТРО составляло 71,4 %. Темп прироста у животных с продолженным ростом опухоли был выше, чем в группе 1, но по сравнению с контролем также достоверно ниже (19,60±9,08, p<0,003).

В 3 группе при увеличении дозы ФС до 0,75 мг/кг, при тех же параметрах лазерного излучения, как в группе 2 (100 Дж/см<sup>2</sup>, 0,34 Вт/см<sup>2</sup>) до 10 суток после ФДТ наблюдалась ПР опухоли у всех животных в группе. На 14 сут процент ПР опухоли снизился до 88,9 % и на 21 сут после ФДТ ПР наблюдалась только у 55,6 % животных. При данных параметрах проведения ФДТ отмечался хороший ингибирующий эффект (ТРО – 96,1 % при ПР 55,6 %). У крыс с продолженным ростом низкий темп прироста опухоли достоверно значим по сравнению с контролем (6,40±3,83, p<0,001).

Таблица 1

Динамика роста саркомы М-1 крыс после ФДТ при внутрибрюшинном введении липосомального амидамин-хлорина в разных дозах, при различной плотности энергии и плотности мощности лазерного излучения

№ гр	Схема проведения ФДТ	1. Объем опухоли (V) 3. Торможение роста опух. (ТРО %) 2. Коэффициент прироста опух. (К) 4. Полная регрессия опухоли (ПР %)				
		Сроки наблюдений				
		3сутки	7 суток	10 суток	14 суток	21 сутки
1	1,0 мг/кг E=75 Дж/см <sup>2</sup> Ps=0,3Вт/см <sup>2</sup>	Полная регрессия опухоли у 100 % животных	0,047 ± 0,047 -0,78 ± 0,22* 98,0 88,9	0,364 ± 0,364 0,75 ± 1,75* 91,0 88,9	0,926 ± 0,868 3,57 ± 4,16* 87,6 55,6	0,644 ± 0,332 3,90 ± 2,60* 88,0 25,0
2	0,5 мг/кг E=100 Дж/см <sup>2</sup> Ps=0,34 Вт/см <sup>2</sup>	0,177 ± 0,102 -0,21 ± 0,47 70,9 66,7	0,260 ± 0,183 -0,08 ± 0,44* 88,8 55,6	0,601 ± 0,455 0,95 ± 1,04* 85,1 55,6	1,311 ± 0,880 3,95 ± 2,23* 82,5 55,6	3,945 ± 1,846 19,60 ± 9,08* 71,4 55,6
3	0,75 мг/кг E=100 Дж/см <sup>2</sup> Ps=0,34 Вт/см <sup>2</sup>	Полная регрессия опухоли у 100 % животных			0,052 ± 0,052 -0,60 ± 0,40* 99,3 88,9	0,529 ± 0,529 6,40 ± 3,83* 96,1 55,6
4	1,0 мг/кг E=100 Дж/см <sup>2</sup> Ps=0,34 Вт/см <sup>2</sup>	Полная регрессия опухоли у 100 % животных		0,005 ± 0,005 -0,95 ± 0,05* 99,9 93,8	0,043 ± 0,043 -0,51 ± 0,49* 99,4 93,8	0,484 ± 0,422 2,79 ± 3,59* 96,5 87,5
5	1,25 мг/кг E=150 Дж/см <sup>2</sup> Ps=0,34 Вт/см <sup>2</sup>	Полная регрессия опухоли у 100 % животных				0,010 ± 0,010 -0,85 ± 0,15* 99,0 88,9
6	1,25 мг/кг E=150 Дж/см <sup>2</sup> Ps=0,51 Вт/см <sup>2</sup>	Полная регрессия опухоли у 100 % животных				
7	2,5 мг/кг E=150 Дж/см <sup>2</sup> Ps0,51 Вт/см <sup>2</sup>	Полная регрессия опухоли у 100 % животных				
8	2,5 мг/кг E=300 Дж/см <sup>2</sup> Ps=0,51 Вт/см <sup>2</sup>	Полная регрессия опухоли у 100 % животных				
Контроль (V, K)		0,609 ± 0,064 2,52 ± 0,51	2,324 ± 0,254 13,37 ± 2,57	4,030 ± 0,534 19,38 ± 2,23	7,495 ± 1,196 34,33 ± 4,27	13,787 ± 1,543 65,31 ± 7,70
*p<0,050 результаты достоверно значимы по сравнению с контролем.						

Таблица 2

Динамика роста саркомы М-1 крыс после ФДТ при внутрибрюшинном введении амидоаминхлорина в разных дозах, при различной плотности энергии и плотности мощности лазерного излучения

№ гр	Схема проведения ФДТ	1. Объём опухоли (V) 4. Полная регрес. опух (ПР %) 2. Коэффициент прироста опух. (К) 3. Торможение роста опух. (ТРО %) 5. Уровень значимости (p)				
		Сроки наблюдений				
		3сутки	7 сутки	10 сутки	14 сутки	21 сутки
1.	1,25 мг/кг E=150 Дж/см <sup>2</sup> Ps=0,51 Вт/см <sup>2</sup>	Полная регрессия опухоли у 100 % животных	0,046 ± 0,035 -0,39 ± 0,45* 98,0 62,5	0,088 ± 0,051 0,16 ± 0,67* 97,7 62,5	0,332 ± 0,182 3,16 ± 2,38* 95,6 50,0	1,035 ± 0,453 11,88 ± 6,07* 92,5 50,0
2.	2,5 мг/кг E=150 Дж/см <sup>2</sup> Ps=0,51 Вт/см <sup>2</sup>	Полная регрессия опухоли у 100 % животных		0,006 ± 0,006 -0,80 ± 0,20* 99,8 87,5	0,083 ± 0,039 -0,01 ± 0,50* 98,9 50,0	0,288 ± 0,144 3,79 ± 2,68* 97,9 50,0
3.	2,5 мг/кг E=300 Дж/см <sup>2</sup> Ps=0,51 Вт/см <sup>2</sup>	Полная регрессия опухоли у 100 % животных				
Контроль (V, K)		0,627 ± 0,055 2,97 ± 0,50	2,287 ± 0,204 14,01 ± 2,05	3,858 ± 0,433 20,73 ± 2,04	7,461 ± 1,014 36,00 ± 3,85	13,787 ± 1,543 65,31 ± 7,70

\*p<0,050 результаты достоверно значимы по сравнению с контролем

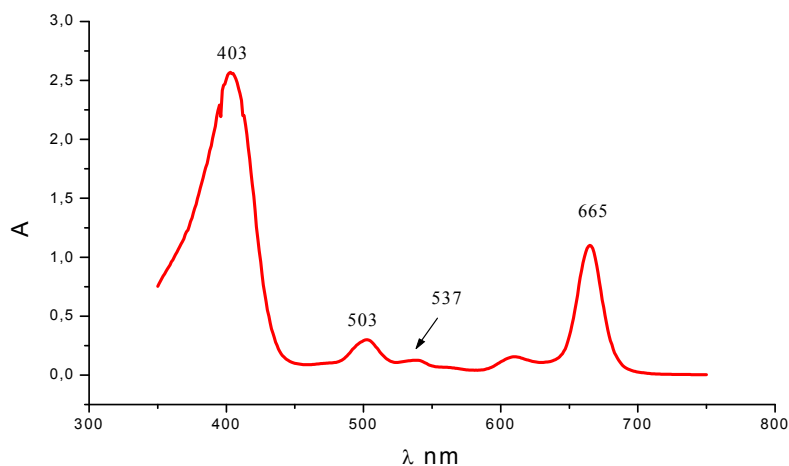
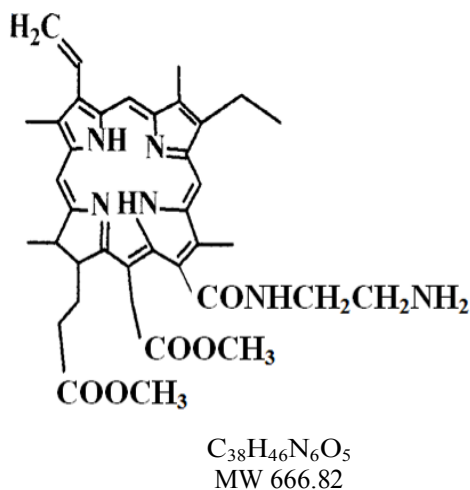


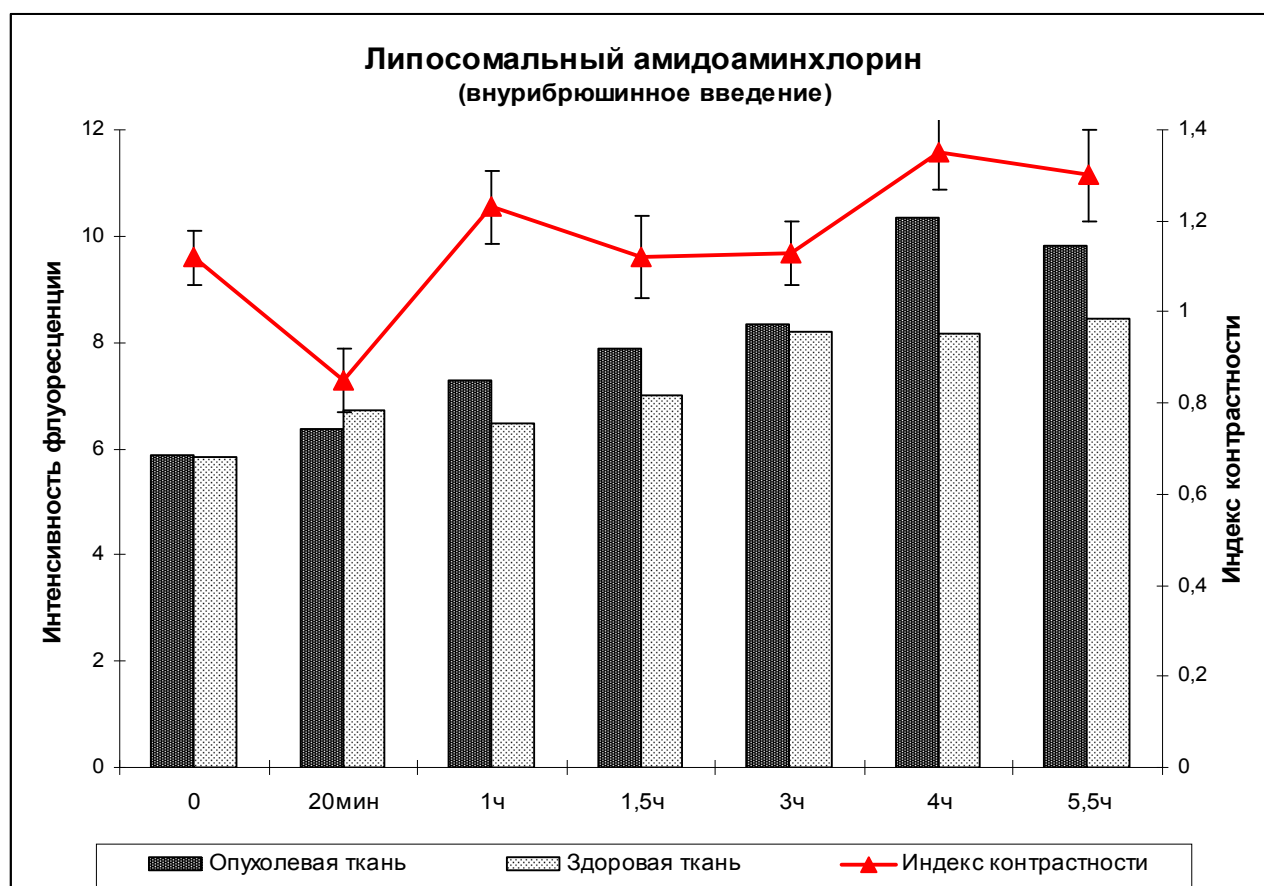
Рис. 1. Формула ФС амидоаминхлорина.

Рис. 2. Спектр поглощения амидоаминхлорина (А – оптическая плотность).

В 4 группе при увеличении дозы ФС до 1,0 мг/кг, при тех же параметрах лазерного излучения (100 Дж/см<sup>2</sup>, 0,34 Вт/см<sup>2</sup>) до 7 сут после ФДТ наблюдалась полная регрессия опухоли у всех животных в группе. На 10–14 сут после ФДТ лишь у 1 крысы отмечался рост опухоли, на 21 сут после ФДТ рост опухоли – у 2 крыс. На данный срок исследования наблюдался значительный ингибирующий эффект (ТРО – 96,5 % при ПР – 87,5 %). Коэффициент абсолютного прироста опухоли достоверно ниже, чем в контроле (2,79±3,59, p<0,001).

В 5 группе при увеличении дозы ФС до 1,25 мг/кг и увеличении плотности энергии лазерного излучения до 150 Дж/см<sup>2</sup>, при той же плотности мощности 0,34 Вт/см<sup>2</sup> (как в предыдущих исследованиях) до 14 сут после ФДТ наблюдалась полная регрессия опухоли у всех животных в группе.

На 21 сут исследования при данных параметрах проведения терапии ингибирующий эффект еще более значительный, чем в группе 4 (ТРО – 99,0 %, ПР – 88,9 %).



**Рис. 3.** Уровень накопления и индекс контрастности липосомального амидоаминхлорина в опухоли и здоровой ткани крыс с саркомой М-1.

В 6 группе при увеличении плотности мощности до  $0,51 \text{ Вт/см}^2$  (при той же дозе ФС  $1,25 \text{ мг/кг}$  и плотности энергии  $150 \text{ Дж/см}^2$ , как в группе 5) до 21 суток после ФДТ отмечалась полная регрессия опухоли у всех животных в группе.

Группы 7 и 8 были включены в работу для сравнения (нелипосомальная форма амидоаминхлорина).

В 7 группе при увеличении дозы ФС до  $2,5 \text{ мг/кг}$  при той же плотности энергии и плотности мощности ( $150 \text{ Дж/см}^2$ ,  $0,51 \text{ Вт/см}^2$ ) до 21 сут после ФДТ также наблюдалась полная регрессия опухоли у всех животных в группе.

В 8 группе при той же дозе ФС  $2,5 \text{ мг/кг}$  и плотности мощности  $0,51 \text{ Вт/см}^2$ , но при увеличении плотности энергии лазерного излучения до  $300 \text{ Дж/см}^2$  мы получили тот же результат — полная регрессия опухоли у всех животных в группе.

Таким образом, противоопухолевый эффект внутрибрюшинного введения липосомального амидоаминхлорина до 21 суток после ФДТ получен при всех исследуемых дозах ФС ( $0,5$ ;  $0,75$ ;  $1,0$ ;  $1,25$  и  $2,5 \text{ мг/кг}$ ) и параметрах лазерного облучения (плотность энергии  $100$ ;  $150$ ;  $300 \text{ Дж/см}^2$  и плотность мощности  $0,34$  и  $0,51 \text{ Вт/см}^2$ ).

При увеличении дозы ФС, плотности энергии и плотности мощности лазерного излучения

повышалась противоопухолевая эффективность ФДТ. Значительный ингибирующий эффект (ТРО — у  $99,0 \%$  и ПР — у  $88,9 \%$  животных) наблюдался уже при дозе ФС  $1,0 \text{ мг/кг}$ ,  $E = 100 \text{ Дж/см}^2$  и  $Ps = 0,34 \text{ Вт/см}^2$  лазерного излучения.

Полная регрессия опухоли у  $100 \%$  животных до 21 сут после ФДТ отмечали при использовании липосомального амидоаминхлорина в дозе ФС  $1,25 \text{ мг/кг}$ ,  $E = 150 \text{ Дж/см}^2$  и  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$ .

При сравнении результатов исследования с нелипосомальной формой амидоаминхлорина полная регрессия опухоли достигнута лишь при дозе ФС  $2,5 \text{ мг/кг}$ ,  $E = 300 \text{ Дж/см}^2$  и  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$  лазерного облучения (табл. 2), что подтверждает эффективность липосомальной формы амидоаминхлорина.

### Заключение

Минимально эффективная доза ФС и параметры лазерного излучения, приводящие к полной регрессии саркомы М-1 у  $100 \%$  животных до 21 сут исследования после ФДТ, составляли  $1,25 \text{ мг/кг}$  массы животного (внутрибрюшинно), плотность энергии лазерного излучения  $150 \text{ Дж/см}^2$ , плотность мощности  $0,51 \text{ Вт/см}^2$ .

## Литература

1. Барышников А.Ю. Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов // Вестник РАМН. – 2012. – № 3. – С. 23–30.
2. Барышникова М.А., Зангиева М., Барышников А.Ю. Взаимодействие липидных капсул с клеткой // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 1. – С. 11–5.
3. Грищенко Н.В., Барышникова М.А., Полозкова А.П. и др. Липосомальные противоопухолевые препараты не используют CD95-зависимый сигнальный путь апоптоза // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 37–42.
4. Дмитриева М.В., Санарова Е.В., Полозкова А.П. и др. Анализ липосомальной лекарственной формы нового фотосенсибилизатора хлоринового ряда // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 28.
5. Корчагина К.С., Гамаюнов С.В., Каров В.А. и др. Прогностическое значение параметров флюоресценции при фотодинамической терапии // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 100.
6. Матюшин А.А., Барышникова М.А., Барышников А.Ю., Караулов А.В. Липосомы: организм, опухоль, клетка // Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогеномика. – 2013. – Т. 17, № 6. – С. 3–10.
7. Меерович И.Г., Казачкина Н.И., Савицкий А.П. Изучение проявлений фотоиммунного отклика при фотодинамической терапии // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 110.
8. Меерович И.Г., Меерович Г.А., Оборотова Н.А., Барышников А.Ю. Распределение света по глубине опухолевого очага и эффективность использования терапевтического излучения при фотодинамической терапии // Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – Т. 5, № 3. – С. 93–7.
9. Меерович И.Г., Оборотова Н.А. Применение липосом в фотохимиотерапии: 1. Липосомы в ФДТ // Российский биотерапевтический журнал. – 2003. – № 4. – С. 3–8.
10. Меерович И.Г., Оборотова Н.А. Применение липосом в фотохимиотерапии: 2. Липосомальные формы для создания фотоактивируемых липосомальных препаратов в фотобиологических исследованиях // Российский биотерапевтический журнал. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 6–12.
11. Оборотова Н.А. Липосомальные лекарственные формы противоопухолевых препаратов (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. – 2001. – Т. 35, № 5. – С. 32–58.
12. Оборотова Н.А., Барышников А.Ю. Липосомальные лекарственные формы в клинической онкологии // Успехи современной биологии. – 2009. – Т. 121, № 5. – С. 464.
13. Пономарев Г.В. Перспективы создания фотосенсибилизаторов на основе природного хлорофилла А // Российский биотерапевтический журнал. – 2007. – Т. 6, № 1. – С. 24.
14. Пономарев Г.В., Егоров С.Ю., Стрижаков А.А. и др. Фотогенерация синглетного кислорода фотосенсибилизаторами тетрапиррольного ряда в связи с проблемами фотодинамической терапии // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 68.
15. Романко Ю.С., Цыб А.Ф., Каплан М.А., Попучиев В.В. Зависимость противоопухолевой эффективности фотодинамической терапии от плотности световой энергии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 139, № 4. – С. 456–61.
16. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств // М. – Гриф и К. – 2012. – Часть 1. – С. 650–651; 655–669.
17. Санарова Е.В., Оборотова Н.А., Смирнова З.С. и др. Применение липосомальных систем доставки для создания нового эффективного противоопухолевого фотосенсибилизатора // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 72.
18. Смирнова З.С., Кубасова И.Ю., Макарова О.А. и др. Доклиническое изучение липосомальной лекарственной формы фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии // Российский биотерапевтический журнал. – 2003. – Т. 2, № 4. – С. 40–5.
19. Стронатко Е.Ф. Основные этапы развития и современное состояние ФДТ в России // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 51.
20. Тазина Е.В., Костин К.В., Оборотова Н.А. Особенности инкапсулирования лекарственных препаратов в липосомы // Химико-фармацевтический журнал. – 2011. – № 8(45). – С. 30–40.
21. Филоненко Е.В. Флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия в онкологии // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 85.
22. Чан Тхи Хай Иен, Г.В. Раменская, Н.А. Оборотова. Фотосенсибилизаторы хлоринового ряда в фотодинамической терапии опухолей // Российский биотерапевтический журнал. – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 99–105.

Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции  
с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты»

*И.Д. Гулякин, Е.В. Санарова, А.В. Ланцова, А.П. Полозкова, О.Л. Орлова, Н.А. Оборотова*

# **ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ЛХС-1208**

*ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина", Москва*

**Актуальность.** Разработанная лекарственная форма ЛХС-1208 представляет собой лиофилизат для приготовления раствора для инъекций. Актуальным является изучение параметров качества раствора ЛХС-1208 после регидратации. Изменения показателей качества в процессе хранения раствора после регидратации указывает на нецелесообразность проведения биологических экспериментов.

**Задача исследования.** Изучение критериев качества лиофилизированной лекарственной формы после регидратации.

**Материалы и методы.** Субстанция ЛХС-1208, синтезированная в лаборатории химического синтеза НИИ ЭДиТО ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина». Солюбилизатор Kollidon 17 PF (BASF, Германия), растворитель – диметилсульфоксид, чда (Химмед, Россия). Количественное определение содержания препарата проводили на спектрофотометре Cary 100 (Varian, Inc., Австралия) при длине волны 320 нм. Для измерения pH раствора использовали pH-метр HANNA pH 211 (Hanna Instruments, Германия).

**Результаты и выводы.** Проведенные исследования показали, что раствор ЛХС-1208 после регидратации лиофилизата ЛХС-1208 стабилен в течение всего периода исследований (3-е суток) по следующим показателям качества: внешний вид, значение pH и количественное содержание действующего вещества. Изменение количественного содержания ЛХС-1208 в процессе хранения полученного раствора укладывается в ошибку спектрофотометрического определения (~ 2 %). Незначительное снижение содержания ЛХС-1208 при регидратации лиофилизированной ЛФ после хранения: первые сутки – 0,3 %, вторые сутки – 0,3 %, третьи сутки – 0,4 %. Приведенные данные позволяют проводить доклинические исследования противоопухолевой активности разработанной лиофилизированной ЛФ ЛХС-1208 на животных с экспериментальными моделями опухолевого роста.

*Работа выполнена в рамках Государственного контракта 13411.1008799.13.120 от 24 июня 2013 г. «Доклинические исследования инновационного лекарственного средства на основе производного индолокарбазола для лечения онкологических заболеваний».*

*О.И. Задорожная<sup>1</sup>, Л.Р. Тилова<sup>1</sup>, А.В. Савинкова<sup>1</sup>, К.И. Курсанов<sup>1</sup>, А.М. Оглоблина<sup>1</sup>, М.Г. Якубовская<sup>1</sup>, И.В. Будинова<sup>2</sup>, Г.А. Белицкий<sup>1</sup>, Е.А. Лесовая<sup>1</sup>*

# **ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ СЕЛЕКТИВНОГО АГОНИСТА ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО РЕЦЕПТОРА СРДА В КОМБИНАЦИИ С БОРТЕЗОМИБОМ *IN VIVO***

*<sup>1</sup>ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина", Москва*

*<sup>2</sup>Northwestern University, Chicago, USA*

**Актуальность.** Аналоги глюкокортикоидов со сниженными побочными эффектами являются перспективной альтернативой в химиотерапии гемобластозов. Ранее было показано, что соединение этого класса, CpдA, обладает противоопухолевым эффектом *in vitro*. Однако эффекты CpдA в комбинации с химиотерапевтическими препаратами *in vivo* не изучались.

**Задачи исследования.** Оценка влияния CpдA в сочетании с ингибитором протеасом бортезомибом на рост подкожных ксенотрансплантатов лимфомы у бестимусных мышей и изучение молекулярных механизмов их совместного биологического действия.

**Материалы и методы.** Клетки лимфомы линии Granta подкожно вводились иммунодефицитным мышам. После перевивки животным внутрибрюшинно вводилось одно из изучаемых соединений. После извлечения опухолевой ткани проводился ее анализ с помощью ПЦР или иммуногистохимии.

**Результаты и выводы.** Впервые было показано синергическое противоопухолевое действие CpдA с ингибитором протеасом бортезомибом. В образцах от животных, получавших данную комбинацию, наблюдалось меньшее количество жизнеспособных клеток, чем в контроле. Также впервые было выявлено ингибирующее влияние CpдA на убиквитин-протеасомную систему в клетках гемобластозов *in vivo*.