

УДК 616-006-085.831/.849.1

DOI: 10.34215/1609-1175-2020-4-15-19

Фотодинамическая терапия в онкологии: настоящее и будущее

О.В. Коршунова, Н.Г. Плехова

Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

В течение последнего десятилетия достигнуты определенные успехи в применении фотодинамической терапии (ФДТ) в онкологической клинике. Перспективным направлением для развития этого направления лечения стало использование фотосенсибилизаторов с заданными характеристиками. Оно основано на локальной активации фотосенсибилизатора в ткани опухоли световым излучением определенной длины волны для инициации фотохимической реакции с последующим разрушением атипичных клеток. Несмотря на опыт успешного применения ФДТ в разных областях медицины, далеко не все ее возможности изучены. В данном обзоре литературы обобщены сведения по использованию ФДТ и ее перспективах в онкологии.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотосенсибилизаторы, световое воздействие, фотохимическая реакция

Поступила в редакцию 24.07.2020 г. Принята к печати 02.09.2020 г.

Для цитирования: Коршунова О.В., Плехова Н.Г. Фотодинамическая терапия в онкологии: настоящее и будущее. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020;4:15–9. doi: 10.34215/1609-1175-2020-4-15-19

Для корреспонденции: Плехова Наталья Геннадьевна – д-р биол. наук, заведующая ЦНИЛ, профессор кафедры клинической лабораторной медицины общей и клинической иммунологии ТГМУ (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова 2), ORCID: 0000-0002-8701-7213; e-mail: pl_nat@hotmail.com

Photodynamic therapy in oncology: Present and future

O.V. Korshunova, N.G. Plekhova

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Summary: There is progress in applying photodynamic therapy in cancer clinic during the last decade. The promising direction to develop this way of treatment is the use of photosensitizers with given characteristics. It is based on a local activation of a photosensitizer in a cancer tissue by using luminous radiation of an appropriate wave length to launch photochemical reaction following the atypical cells' destruction. In spite of a successful experience of using photodynamic therapy in different areas of medicine, not all its opportunities are studied. There are general information in this literature survey about the use of photodynamic therapy and its perspectives in oncology.

Keywords: photodynamic therapy, photosensitizers, light exposure, photodynamic reaction

Received: 24 July 2020; Accepted: 2 September 2020

For citation: Korshunova OV, Plekhova NG. Photodynamic therapy in oncology: Present and future. *Pacific Medical Journal*. 2020;4:15–9. doi: 10.34215/1609-1175-2020-4-15-19

Corresponding author: Natalya G. Plekhova, PhD, professor, Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-8701-7213; e-mail: pl_nat@hotmail.com

Первые исследования в области медицинского применения света (фотодинамическая терапия – ФДТ) при туберкулезном поражении кожи были выполнены датским физиком Н.Р. Финсеном, которому за это в 1903 г. была вручена Нобелевская премия в области физиологии и медицины. В 1904 г. Г. фон Тапайнер и А. Джесионек для инициации специфической фотохимической реакции при лечении кожных заболеваний использовали в качестве фотосенсибилизатора (ФС) эозин. Именно тогда появился термин «фотодинамическая реакция», обозначающий три составляющие: свет, краситель, поглощающий световое излучение, и кислород [1]. Были доказаны фототоксичность гематопорфирина и эндогенных порфиринов и высокая эффективность светолечения при злокачественных поражениях кожи, резистентных к другим видам противоопухолевого воздействия [2–5]. Также была продемонстрирована избирательность накопления ФС в опухолевых тканях [6, 7]. В России ФДТ применяется с 1992 г., когда был создан первый отечественный ФС

«Фотогем», относящийся к группе производных гематопорфирина [8].

Классическое определение ФДТ было дано Е.Ф. Странадко, который рассматривал ее как метод локальной активации видимым красным светом накопившегося в опухоли ФС, что активирует продукцию кислорода с последующим разрушением атипичных клеток [9]. Механизм фотодинамического эффекта (рис. 1) заключается в том, что ФС первоначально поглощает фотон с заданной энергией, и его молекула переходит в первое возбужденное синглетное состояние. Затем, в результате быстрой релаксации ФС переходит в более долгоживущее триплетное состояние и взаимодействует с молекулярным кислородом, преобразуя его либо в активные формы, либо в синглетный кислород ($^1\text{O}_2$) [10]. Если ФС не локализуется в клетке, его фотодинамическая активность относительно низка, несмотря на высокий выход синглетного кислорода. Внутриклеточными мишенями ФДТ служат митохондрии, эндоплазматический ретикулум, лизосомы, аппарат Гольджи, плазматическая

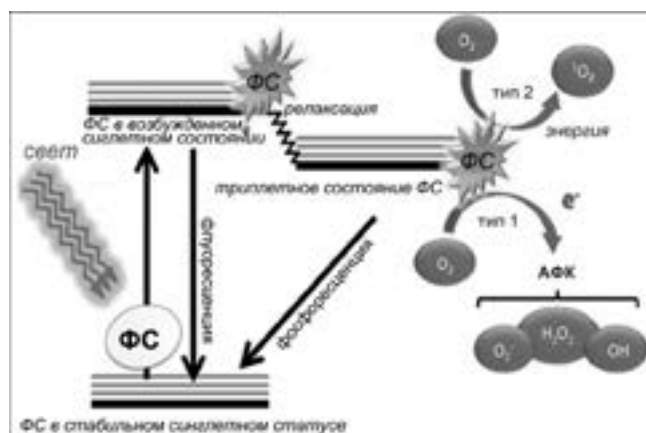


Рис. 1. Схема фотодинамической терапии (включая диаграмму Яблонского) по Т. Dai et al., 2012 [10]:

ФС – фотосенсибилизатор, АФК – активные формы кислорода.

мембрана. Повреждения данных структур запускают процессы, приводящие к клеточной гибели (рис. 2). Максимальная концентрация ФС в тканях достигается через 24–72 часа. Большинство сенсibilizаторов не попадают в ядро, поэтому ФДТ не вызывает изменений ДНК и мутаций.

Эффективность фотосенсибилизации определяется по существу квантовым выходом с образованием триплетного состояния ФС. С этого момента заканчивается световая и начинается темновая фаза фотодинамической реакции. Деактивация метастабильного триплетного состояния протекает через взаимодействие с молекулярными структурами клетки. При этом возможно образование свободных радикалов ФС (тип I) или резонансный перенос энергии возбужденного триплетного состояния ФС на молекулярный кислород с образованием синглетного кислорода (тип II). Такой индуцированный ФС переход нетоксичного триплетного кислорода ($^3\text{O}_2$) в синглетный ($^1\text{O}_2$) и обуславливает цитотоксичное действие соединения. Находясь в возбужденном состоянии, кислород вступает в реакции с различными биологическими молекулами, окисляя их с образованием свободных радикалов и перекисей. В результате начинается каскад фотодинамических повреждений, приводящих к быстрой и селективной гибели клеток-мишеней. При этом химической трансформации ФС не происходит, и после передачи энергии возбуждения молекулярному кислороду его молекула возвращается в стабильное состояние, и весь цикл может быть запущен заново новым квантом света. После нескольких циклов поглощения ФС может деградировать и потерять способность запускать фотодинамическую реакцию. Этот эффект называется фотобликинг [12].

В опухолевой ткани ФС накапливается с наличием градиента концентрации «опухоль/норма», и цитотоксический эффект зависит от уровня его накопления и глубины проникновения света в ткань новообразования [13]. В настоящее время рассматриваются три основных механизма ФДТ-эффекта: прямое повреждение опухолевых клеток, разрушение сосудистой системы опухоли, элиминация новообразования с участием иммунных клеток (рис. 2). Реактивный синглетный

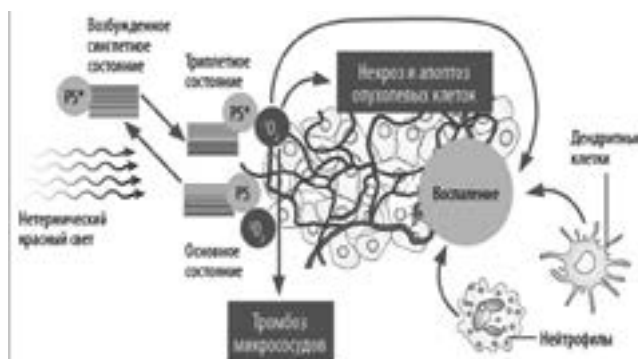


Рис. 2. Механизм действия ФС на опухоль при ФДТ [11]:

PS – photosensitizer (фотосенсибилизатор).

кислород может непосредственно разрушать клетки-мишени путем индукции некроза и/или апоптоза, а также вызывать разрушение сосудистой системы опухоли и местную воспалительную реакцию [14]. Последняя инициирует окклюзию сосудов и индуцирует цитотоксическую активность нейтрофилов и дендритных клеток с последующим развитием специфического иммунного ответа [15]. Таким образом, ФДТ сопровождается сложными воспалительными процессами, индуцирующими противоопухолевый иммунный ответ.

Отмечается, что от липофильных свойств ФС зависит вероятность клеточной гибели, для гидрофильных свойств она значительно ниже. Данный факт указывает на определяющую роль повреждений мембранных структур [16, 17]. Так, ФС, локализующиеся в митохондриях, по-видимому, вызывают гибель клеток в результате апоптоза, а локализующиеся на мембранах индуцируют некроз [18]. Повреждения плазматической мембраны возникают в течение нескольких минут после начала облучения. В отношении повреждения сосудистой системы патологического очага и окружающих тканей отмечается, что в первые минуты облучения в сосудах вследствие нарушения их проницаемости возникают стаз и тромбоз. Определенное влияние на результат ФДТ имеет повреждение сосудистой системы нормальной ткани, окружающей опухоль. Причем при воздействии ФС обнаруживается торможение развития иммунодефицитных состояний, улучшение микроциркуляции, активизация выведения холестерина из сосудов, нормализация гормонального обмена [19].

Классификация ФС с учетом химической структуры в зависимости от длины волны источника света была разработана А.Ю. Курочкиной и др. в 2010 г. [20] (табл.). В настоящее время в онкологической клинике широко используют сенсibilizатор хлорин Е6, основное преимущество которого заключается в том, что он активируется светом длинноволновой части спектра, который глубже проникает в ткани [2, 17].

Потенциальная специфичность ФДТ в отношении опухоли достигается за счет накопления/задержки ФС в области новообразования, облучаемой светом. Этот вариант усиления терапевтического эффекта дает серьезные преимущества перед другими методами лечения. Терапевтический потенциал ФДТ можно будет использовать полнее при повышении специфичности ФС

Таблица

Классификация ФС [20]

Группа ФС	Химический класс	Представители	Длина волны, нм
Тетрациклины	Антимикробные вещества	Доксициклин, хлортетрациклин	280–325
Сульфаниламиды		Сульфаниламид	
Производные нитрофурана		Фурагин, фуразолидон	
Фторхинолоны		Ципрофлоксацин, норфлоксацин	
Фурукумарины	Природные ФС	Псорален и его метоксипроизводное сантотоксин	300–380
Лекарственные экстракты на основе хлорофилла		Хлорофиллипт, настойка листьев эвкалипта, галенофиллипт	390–465, 650–690
Акридины	Красители (катионные азины)	Профлавин, акридиновый оранжевый, аминакридин, этакридин	400–500
Феназины		Нейтральный красный	500–550
Цианины	Макроциклические ФС	Пирвиниум, стилбазиум	500–600
Порфирины		Гематопорфирины, бензопорфирины	600–650
Периленквиноноид	Природные ФС	Гиперицин, экстракт <i>Hypocrella bambusae</i>	
Фенотиазины	Красители (катионные азины)	Метиленовый синий, толуидиновый синий	620–660
Хлоринсодержащие	Природные ФС	Хлорин Е6 (фотодитазин)	
Фталоцианины	Макроциклические ФС	Al-фталоцианин, силикон фталоцианин	660–700

и улучшении методик доставки света к поверхностям со сложной геометрией [5, 6]. С помощью ФДТ эффективно лечатся поверхностные новообразования и микро-скопические остаточные опухоли после резекции при условии равномерного распределения ФС и кислорода в ткани-мишени. При ФДТ за счет повреждения эндотелия кровеносных сосудов нарушается кровоснабжение опухолевой ткани [21, 22]. Объем поражения зависит от глубины проникновения света, что ограничивает возможности метода. Для большинства комбинаций ФС эта величина лежит в диапазоне от нескольких миллиметров до одного сантиметра. При поверхностном воздействии ФДТ выигрывает по сравнению с радиотерапией, особенно если принять во внимание побочные эффекты последней. При облучении обширных поверхностей, таких как, например, плевра или брюшина, ФДТ оказывается предпочтительнее, в силу меньшего повреждения подлежащих тканей. Теоретически ФДТ идеальна для лечения заболеваний плевры, поскольку цитотоксический эффект будет проявляться только в самой серозной оболочке и в небольшом объеме подлежащих тканей (легкого или грудной стенки) [23].

К преимуществам ФДТ также относятся возможность амбулаторного проведения, низкий уровень болевых ощущений, легкость при формировании фигурных полей, возможность комбинации с другими методами лечения, отсутствие лимитирующих доз ФС и светового воздействия (и, как следствие, возможность многократного повторения процедуры), удобство применения при множественном поражении и лучшие косметические результаты. При фотодинамическом воздействии в ткани сохраняется структура коллагеновых волокон, что способствует формированию оптимальных рубцов. Этот вид терапии приводит к селективной деструкции опухоли, которая достигается за счет тропности и направленности

светового воздействия с минимальным повреждением окружающей ткани и отсутствием резистентности при неоднократном применении. При повторном приеме ФС отсутствует токсичность и мутагенность, что предполагает возможность многокурсового лечения. При ФДТ отмечается минимальная продолжительность процесса заживления послеоперационной раны без формирования эрозий и рубцов. Уникальные свойства метода позволяют однозначно определить его место в терапии рака. ФДТ с ФС стала эффективным терапевтическим вариантом лечения различных опухолей с помощью генерируемых светом цитотоксических активных форм кислорода для индукции апоптоза или некроза. Фотодинамическое воздействие сегодня сочетают с другими методами терапии, и когда хирургическая операция невозможна из-за тяжелых сопутствующих заболеваний или распространенности опухоли, его также используют как альтернативный метод лечения. При световом воздействии исключаются побочные эффекты химиотерапии (тошнота, рвота, стоматит, выпадение волос, угнетение кроветворения). Также ФДТ первичных и местно-распространенных опухолей позволяет улучшить контроль над локальными симптомами новообразования и снизить смертность (по сравнению с хирургическими вмешательствами и радиотерапией). К недостаткам метода относятся ограниченная глубина проникновения лазерного света (4–8 мм в зависимости от длины волны), отсутствие надежной доказательной базы, трудности планирования, дозиметрии и мониторинга из-за сложного взаимодействия фотонов с биотканью [24]. При массивных, инвазивных или глубоколежащих опухолях поверхностное облучение будет недостаточным для воздействия на всю толщу новообразования. ФДТ не показана пациентам, страдающим наследственной или приобретенной порфирией, повышенной кожной

фоточувствительностью и тяжелыми поражениями печени и почек. Существуют также особенности локализации и роста опухолей внутренних органов, при которых эндоскопическая ФДТ связана с высоким риском осложнений и должна применяться с большой осторожностью. Это касается распадающихся новообразований с образованием фистул, вовлечения в опухолевый процесс крупных сосудов [25].

Повысить эффективность ФДТ, а также устранить ее побочные эффекты возможно несколькими способами. Учитывая, что эффективному клиническому применению метода препятствуют проблемы доставки света через биологическую ткань, которая является оптически непрозрачной, используют оптические волокна для воздействия на глубине, но их несовместимость с имплантацией позволяет доставлять только одну дозу света за одну процедуру. Для решения данной проблемы разрабатываются новые беспроводные подходы к ФДТ использования миниатюрного (30 мг, 15 мм³) имплантируемого устройства и системы питания для доставки света. Терапевтическая эффективность этого подхода достигается путем активации хлорина Е6 (2,3-дигидропорфирина) через ткань толщиной более 3 см. Многократные контролируемые дозы облучения преодолевают ключевые клинические ограничения ФДТ [26].

За последнее десятилетие наблюдается значительное ускорение развития нанотехнологий, что позволяет сочетать известные ФС с наноматериалами, повышая эффективность светолечения. Использование наночастиц позволяет достичь целевого эффекта, ориентированного на специфические рецепторы, и, как следствие, повышает селективность терапии. Так, с целью усовершенствования ФДТ разрабатывают аптамеры для непосредственной доставки активных молекул в клетки-мишени. Показано, что конъюгирование хлорина Е6 с рецептором интерлейкина-6, связывающим РНК-аптамер, повышает эффективность ФДТ в отношении клеток, экспрессирующих этот рецептор. При световом облучении клетки-мишени избирательно уничтожаются, в то время как свободный хлорин Е6 не проявляет токсического эффекта. С помощью этого подхода была улучшена целевая специфичность хлорин Е6-опосредованной ФДТ. В будущем другие опухолеспецифичные аптамеры могут быть использованы для селективной локализации ФС в зоне интереса и повышения эффективности и специфичности светолечения при онкологических заболеваниях.

На настоящий момент в клиниках ряда стран разрешено применение при ФДТ производных гематопорфиринов (фотофрин, фотосан, фотогем) в рамках протоколов второй и третьей фаз клинических испытаний. В частности, в США, Канаде и странах Европы в рамках третьей фазы клинических испытаний разрешен фотофрин (порфирин натрия) при лечении эндобронхиального рака, рака пищевода, поверхностного рака мочевого пузыря. При этом в Японии одобрен ФС второго поколения с более низкой фоточувствительностью, чем фотофрин – лазерфрин (моно-*L*-аспартил хлор Е6). Клиническое применение лазерфрина с новым

диодным лазером продемонстрировало отличный противоопухолевый эффект и низкую фоточувствительность кожи. Также в Японии, США и многих других странах ФДТ считается одним из вариантов лечения рака легких стадий TisN0M0 и T1N0M0. Светолечение не отражается на функции легких и может сочетаться с химиотерапией. В рамках третьей фазы проводятся клинические исследования метода на ранних стадиях рака легких, пищевода, желудка, мочевого пузыря и шейки матки.

ФДТ может выполняться, как по радикальной, так и по паллиативной программам. В первом случае она показана больным ранними формами рака трахеобронхиального дерева, пищевода и желудка при высоком риске оперативного вмешательства или невозможности его выполнения по иным причинам. В частности, светолечение может быть методом выбора при мультицентричном центральном раке легкого, который за счет широкого применения фибробронхоскопии стал в последние годы диагностироваться на ранней стадии значительно чаще, чем ранее.

ФДТ считается перспективной альтернативой традиционным методам лечения рака. Тем не менее улучшение проникновения света *in vivo* и эффективности таргетирования опухолевых клеток остаются основными проблемами. Ведется разработка многофункциональных магнитных наночастиц, конъюгированных с ФС и молекулами, нацеленными на рак, с помощью простой модификации их поверхности. Так, для селективного воздействия на опухолевые клетки применяются магнитные наночастицы ядра Fe₃O₄, ковалентно связанные с хлорином Е6 и фолиевой кислотой. При облучении с длиной волны 660 нм такие наночастицы продемонстрировали биосовместимость и выраженный противоопухолевый эффект (через апоптоз клеток-мишеней). Воздействие подтверждено с помощью анализа транслокации плазматической мембраны, ядерной фрагментации, активности каспаз 3 и 7 в раковых клетках предстательной и молочной желез. Новый синтезированный ФС более подходит для ФДТ, чем хлорин Е6, из-за способности инициировать высокий квантовый выход синглетного кислорода из-за глубокого проникновения в силу длинноволновой полосы поглощения. Однако необходимы дальнейшие исследования *in vivo*, чтобы проверить описанные биологические эффекты для клинического применения [27].

Заключение

ФДТ заняла надлежащее место в системе противораковых лечебных воздействий, и ее использование имеет широкие перспективы. Дальнейшее развитие метода будет связано с синтезом новых ФС, характеризующихся избирательным накоплением в опухоли, выраженной способностью индукции синглетного кислорода, возбуждением на большей длине волны (для увеличения глубины проникновения) и меньшей стоимостью. Кроме того, необходима модернизация аппаратной базы для проведения дозиметрии, планирования и мониторинга ФДТ. Также этот метод лечения может широко

использоваться во многих областях медицины, а его применение будет расширено из-за уменьшения стоимости лазерного оборудования и снижения системной фоточувствительности, индуцируемой ФС.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании работы из собственных средств.

Литература / References

1. Гейниц А.В., Сорокатый А.Е., Ягудаев Д.М., Трухманов Р.С. Фотодинамическая терапия. История создания метода и ее механизмы. *Лазерная медицина*. 2007;11(3):42–6. [Geinitz AV, Sorokaty AE, Yagudajev DM, Trukhmanov RS. Photodynamic therapy. The history and mechanisms of its action. *Laser medicine*. 2007;11(3):42–6 (In Russ).]
2. Шило Р.С., Батвинков Н.И. Фотодинамическая терапия заболеваний гепатобилиарной зоны. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2016;55(3):52–7. [Shilo RS, Batvinkov NI. Photodynamic therapy of hepatobiliary system diseases. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2016;55(3):52–7 (In Russ).]
3. Policard A. Etudes sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees a la lumiere de Wood. *CR Soc Biol*. 1924;91:1423–4.
4. Филоненко Е.В., Сарибекян Э.К., Иванова-Радкевич В.И. Возможности интраоперационной фотодинамической терапии в лечении местнораспространенного рака молочной железы. *Биомедицинская фотоника*. 2016;5(1):9–14. [Filonenko EV, Saribekyan EK, Ivanova-Radkevich VI. Capabilities of intraoperative photodynamic therapy for treatment of locally advanced breast cancer. *Biomedical Photonics*. 2016;5(1):9–14 (In Russ).]
5. Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res*. 1978;38:2628–35.
6. Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori G, Kessel D, Korbek M, et al. Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90(12):889–905.
7. Jori G. Tumour photosensitizers: approaches to enhance the selectivity and efficiency of photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B, Biol*. 1996;36(2):87–93.
8. Филоненко Е.В. Флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия – обоснование применения и возможности в онкологии. *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика*. [Filonenko EV. Fluorescence diagnostics and photodynamic therapy: justification of applications and opportunities in oncology. *Photodynamic Therapy and Photodiagnosics*. 2014;1:3–7 (In Russ).]
9. Странадко Е.Ф. Основные этапы развития фотодинамической терапии в России. *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика*. 2015;1(3):3–10. [Stranadko EF. Main stages of development of photodynamic therapy in Russia. *Photodynamic Therapy and Photodiagnosics*. 2015;1(3):3–10 (In Russ).]
10. Dai T, Fuchs BB, Coleman JJ, Prates RA, Astrakas C, St Denis TG, et al. Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform. *Front Microbiol*. 2012;10(3):120. doi: 10.3389/fmicb.2012.00120
11. Girotti AW. Photodynamic lipid peroxidation in biological systems. *Photochem Photobiol*. 1990;51(4):497–509.
12. McCaughan Jr JS. Photodynamic therapy. *Drugs and Aging*. 1999;15(1):49–68.
13. Гамаюнов С.В., Гребенкина Е.В., Ермилина А.А., Каров В.А., König K., Корчагина К.С. и др. Флюоресцентный мониторинг фотодинамической терапии рака кожи в клинической практике. *Современные технологии в медицине*. [Gamayunov SV, Grebenkina EV, Ermilina AA, Karov VA, König K, Korchagina KS, et al. Fluorescent monitoring of photodynamic therapy for skin cancer in clinical pract. *Modern Technologies in Medicine*. 2015;7(2):75–83 (In Russ).]
14. Donohoe C, Senge MO, Arnaut LG, Gomes-da-Silva LC. Cell death in photodynamic therapy: From oxidative stress to anti-tumor immunity. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2019;1872(2):188308. doi: 10.1016/j.bbcan.2019.07.003
15. Castano AP, Mroz P, Hamblin MR. Photodynamic therapy and anti-tumour immunity. *Nat Rev Cancer*. 2006;6(7):535–45.
16. Церковский Д.А., Истомин Ю.П. Фотодинамическая терапия: основные механизмы повреждения опухоли. *Онкологический журнал*. 2016;10(3):94–105. [Tzerkovsky DA, Istomin YuP. Photodynamic therapy: basic mechanisms of tumor destruction. *Journal of Oncology*. 2016;10(3):94–105 (In Russ).]
17. Тулаева Л.А., Потапов Г.П. Синтез и свойства водорастворимых производных хлорина е6. *Химия растительного сырья*. 2002;2:85–8. [Tulaeva LA, Potapov GP. Synthesis and properties of water-soluble derivatives of e6 chloride. *Chemistry of Plant Raw Materials*. 2002;2:85–8 (In Russ).]
18. Узденский А.Б. Биофизические аспекты фотодинамической терапии. *Биофизика*. 2016;61(3):547–57. [Uzdensky AV. Biophysical aspects of photodynamic therapy. *Biophysic*. 2016;61(3):547–57 (In Russ).]
19. Корчагина К.С., Гамаюнов С.В., Воропаева Л.А., Шахова Н.М. Патоморфологические изменения тканей после проведения ФДТ. *Поволжский онкологический вестник*. 2017;30(3):64–8. [Korchagina KS, Gamayunov SV, Voropaeva LA, Shakhova NM. Pathomorphological changes in tissues after PDT. *Oncology Bulletin of the Volga*. 2017;30(3):64–8 (In Russ).]
20. Курочкина А.Ю., Плавский В.Ю., Юдина Н.А. Классификация фотосенсибилизаторов антимикробной фотодинамической терапии заболеваний периодонта. *Медицинский журнал*. 2010;32(2):131–3. [Kurochkina AYU, Plavsky VYu, Yudina NA. Classification of photosensitizers for antimicrobial photodynamic therapy of periodontal diseases. *Medical Journal*. 2010;32(2):131–3 (In Russ).]
21. Castano AP, Demidova TN, Hamblin MR. Mechanisms in photodynamic therapy: Part three – photosensitizer pharmacokinetics, biodistribution, tumor localization and modes of tumor destruction. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2005;2(2):91–106.
22. Castano AP, Demidova TN, Hamblin MR. Mechanisms in photodynamic therapy: Part two – cellular signaling, cell metabolism and modes of cell death. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2005;2(1):1–23.
23. Акопов А.Л., Казаков Н.В., Русанов А.А., Карлсон А. Механизмы фотодинамического воздействия при лечении онкологических больных. *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика*. 2015;2:9–16. [Akovov AL, Kazakov NV, Rusanov AA, Karlson A. The mechanisms of photodynamic action for treating of cancer patients. *Photodynamic Therapy and Photodiagnosics*. 2015;2:9–16 (In Russ).]
24. Каплан М.А., Капинус В.Н., Попучиев В.В., Романко Ю.С., Ярославцева-Исаева Е.В., Спиченкова И.С. и др. Фотодинамическая терапия: результаты и перспективы. *Радиация и риск*. 2013;22(3):115–23. [Kaplan MA, Kapinus VN, Popuchiev VV, Romanko YuS, Yaroslavtseva-Isaeva EV, Spichenkva IS, et al. Photodynamic therapy: Results and prospects. *Radiation and Risk*. 2013;22(3):115–23 (In Russ).]
25. Гельфонд М.Л. Фотодинамическая терапия в онкологии. *Практическая онкология*. 2007;8(4):204–10. [Gelfond ML. Photodynamic therapy in oncology. *Practical Oncology*. 2007;8(4):204–10 (In Russ).]
26. Чан Тхи Хай Иен, Раменская Г.В., Оборотова Н.А. Фотосенсибилизаторы хлоринового ряда в ФДТ опухолей. *Российский биотерапевтический журнал*. 2009;8(4):99–104. [Tran Thi Hai Yen, Ramenskaya GV, Oborotova NA. Chlorin derivatives in cancer photodynamic therapy. *Russian Journal of Biotherapy*. 2009;8(4):99–104 (In Russ).]
27. Kyong-Hoon Choi, Ki Chang Nam, Guangsup Cho, Jin-Seung Jung, Bong Joo Park. Enhanced photodynamic anticancer activities of multifunctional magnetic nanoparticles (Fe₃O₄) conjugated with chlorin e6 and folic acid in prostate and breast cancer cells. *Nanomaterials*. 2018;722(8):1–10.

С.В. Шляхтин, Т.В. Трухачева

ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРОФИЛЛА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ И БЕЗОПАСНЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

РУП «Белмедпрепараты», г. Минск

В данной работе рассматриваются вопросы использования природного пигмента хлорофилла «А» и его производных в качестве активных фармацевтических субстанций при разработке новых лекарственных средств для фотодинамической терапии злокачественных новообразований и ряда других заболеваний неонкологического характера. Особое внимание уделяется физико-химическим, токсикологическим и фармакокинетическим характеристикам отдельных производных хлорофилла, которые рассматриваются отечественными и зарубежными исследователями в качестве потенциальных фотосенсибилизаторов нового поколения. В работе также обсуждаются достоинства и недостатки некоторых лекарственных средств на основе производных хлорофилла, которые уже официально зарегистрированы и разрешены к медицинскому применению в различных странах мира либо находятся на стадии клинических испытаний.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотосенсибилизатор, производные хлорофилла, хлорины.

ВВЕДЕНИЕ

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – новая медицинская технология, представляющая собой метод лечения, основанный на селективном воздействии лазерного излучения на биологические объекты (клетки злокачественных опухолей, микроорганизмы, клетки крови и др.), сенсibilизированные красителем. За последние десятилетия ФДТ заняла прочные позиции в

мировой клинической практике лечения больных злокачественными новообразованиями различных локализаций и некоторыми неопухолевыми заболеваниями. В онкологии ФДТ представляет принципиально новую стратегию лечения, основанную на использовании фотодинамического повреждения опухолевых клеток в ходе фотохимических реакций [1-3]. В отличие от традиционных методов лечения, ФДТ характеризуется малой инвазивностью, высокой избирательностью поражения, низкой токсичностью вводимых лекарственных средств (ЛС) и практически полным отсутствием риска развития тяжелых местных и системных осложнений лечения [4].

История развития современных представлений о ФДТ включает ряд принципиальных открытий, которые стали своеобразными ориентирами для дальнейших научных поисков. Фототоксический эффект ряда природных красителей (эозин, порфирины, псоралены и т.д.) был открыт немецким студентом-медиком О. Raab, работавшим под руководством проф. Н. Таррейнга в Мюнхене [5, 6]. Такие природные красители получили название фотосенсибилизаторов (ФС), а сам метод – фотодинамическое воздействие. Первоначально эти термины распространялись на все процессы, в которые были вовлечены ФС, живая ткань (клетка) и световое облучение. Позже понятия «фотосенсибилизатор» и «фотодинамическая терапия» стали применяться только при описании процессов, где при возбуждении макромолекулы в механизме разрушения клетки оказывался задействованным синглетный кислород.

К первым попыткам интерпретировать механизм действия феномена ФДТ относятся работы А. Ledoux-Lebard (1902), W. Straub (1904), Н. von Tappeiner и А. Jodlbauer (1904). В этих работах был сделан важный вывод о том, что для реализации фотодинамического эффекта в клетках парамеции и эритроцитах необходим кислород, причем освещение гомогенатов клеток, окрашенных ФС, а также изолированных из этих клеток соединений в присутствии кислорода приводило к их быстрой деструкции. Это позволило предполо-

жить, что в основе фотоокисления органических соединений и фотоповреждения клеток лежит один и тот же доминирующий процесс – фотосенсибилизированное окисление биосубстратов кислородом. Эта концепция стала остро обсуждаемой вплоть до наших дней в связи с ее прикладным значением [7].

Значительной вехой в развитии ФДТ стало присуждение в 1903 г. Нобелевской премии Финсену за заслуги в лечении болезней – особенно туберкулезной волчанки – с помощью концентрированного светового излучения. В этом же году впервые была проведена ФДТ рака кожи с использованием эозина в качестве ФС и появились первые сообщения о фототерапии рака [8]. С именем W. Hausmann (1911) связаны первые работы с использованием в качестве ФС гематопорфирина [9]. Несколько позже Н. Fischer [10,11] и его коллеги исследовали на мышах фотодинамическое влияние порфиринов, имеющих разную структуру, и провели их сравнительную оценку.

Важным событием, предопределившим развитие ФДТ на долгие годы, явилась разработка ФС на основе производного гематопорфирина с улучшенными свойствами, получившего название HpD [12]. Было установлено, что при введении этого вещества в организм оно накапливалось в различных опухолях, которые при этом флуоресцировали в красном диапазоне при облучении ультрафиолетом, что в последующем позволило предложить использовать HpD с диагностической целью [13]. Позднее эти наблюдения привели к созданию флуоресцентной эндоскопии, а индуцированная флуоресценция после облучением лазером и в настоящее время остается ценной методикой визуализации новообразований при использовании порфиринов в качестве флуоресцирующих агентов [14]. Переломной стала экспериментальная работа, открывшая возможность использования гематопорфирина с терапевтической целью при условии смены облучающего света с ультрафиолета на видимый свет [15]. В целом, вторая половина XX века по праву может считаться периодом формирования аргументирован-

ных представлений о механизмах действия и возможностях использования ФДТ в лечебных и диагностических целях [4]. Основными ФС в данный период были производные гематопорфирина, не утратившие своего значения и сейчас.

Концепция ФДТ была теоретически обоснована R. Bonnet и M.C. Berenbaum [16] в 1989 г. и ее правомочность подтверждена положительным результатом лечения многих, в том числе онкологических, заболеваний. С тех пор растущее значение ФДТ признано и интенсивно изучается во всех странах мира на уровне доказательной медицины. Рассматриваются характеристики современных ФС и источников света для ФДТ, а также главные направления клинического применения этой новой технологии в качестве как адьювантного, так и самостоятельного метода лечения ряда заболеваний [17].

Целью настоящей работы являлось обобщение и систематизация опубликованных в доступной литературе данных о результатах исследований основных производных природного пигмента хлорофилла как потенциальных ФС для ФДТ. В работе рассматриваются различные производные хлорофилла «А», обсуждается возможность их использования в качестве фармацевтических субстанций при разработке новых лекарственных средств для ФДТ злокачественных опухолей различных локализаций, а также ряда заболеваний неонкологического характера.

ОСНОВНЫЕ КЛАССЫ ФС ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Прогресс ФДТ был бы невозможен без эволюции в области химического синтеза эффективных ФС. История развития теории и практики фотосенсибилизации свидетельствует о пристальном внимании исследователей XX века к различным классам ФС в рамках таких новых наук, как фотобиология и фотомедицина. К числу фотодинамически активных соединений относятся многие красители (ксантины, акридины, тиазины), лекарственные средства (хиноны, антрахиноны, фторхинолоны, производные имидазола, сульфонами-

ды, тетрациклины, антрациклины, коксибы, барбитураты), витамины (рибофлавин) др. Большинство ФС для ФДТ обладает гетероциклической кольцевой структурой, подобной структуре хлорофилла или гема в гемоглобине. При захвате световой энергии молекулой ФС передача и преобразование ее в химическую реакцию в присутствии молекулярного кислорода приводит к образованию синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$) или супероксида (O_2^-), что вызывает прямое и не прямое цитотоксическое действие. Условно, все ФС могут быть разделены на три широких семейства: 1) на основе порфирина; 2) хлорофиллосодержащие ФС; 3) красители.

Традиционно, первым поколением ФС являются порфирины (гематопорфирин и его производные). Коммерчески доступные ЛС Фотофрин, Фотофрин-II, Фотогем представляют собой сложную смесь веществ с порфириновой структурой, которую трудно воспроизводить при промышленном производстве. Кроме того, данные ФС недостаточно селективно накапливаются в опухолевой ткани, а кожная фотосенсибилизация (как побочный эффект ФДТ) может сохраняться на протяжении нескольких недель и даже месяцев [4]. К преимуществам обычно относят простоту получения этих ФС из доступных веществ, а также удовлетворительную эффективность их применения для ФДТ, подтвержденную опытом клинического использования. Анализ преимуществ и недостатков этих средств позволил определить критерии, которые были сформулированы R. Bonnett и M.C. Berenbaum в конце XX века [16]. К основным свойствам «оптимального» ФС относятся: 1) низкая или полностью отсутствующая «темновая» токсичность; 2) высокая селективность накопления в опухоли и быстрое выведение из организма после ФДТ; 3) ФС должен иметь постоянный состав и быть предпочтительно простым веществом; 4) желательно, чтобы ФС имел высокий триплетный квантовый выход и эффективный энергетический перенос для генерирования синглетного кислорода; 5) максимальная абсорбция должна происходить в той красной области спектра, где ткань наиболее

«прозрачна» для используемого света [16,18,19]. В настоящее время одним из основных требований, предъявляемых к новым ФС, является их химическая чистота. Считается, что в случае применения средств со стандартизированным фармацевтическим составом значительно легче оценить их фармакологическую активность, фотохимические и фотофизические свойства, избирательность накопления в целевом органе или ткани, что весьма затруднительно при применении таких композитных ФС, как Фотофрин, Фотосан или НрД. Применение ФС с контролируемым составом позволит существенно повысить эффективность и безопасность метода ФДТ, снизит риск развития тяжелых местных и системных нежелательных реакций. Это, в свою очередь, приведет к оптимизации существующих клинических протоколов ФДТ с учетом установленной взаимосвязи между химической структурой и фотодинамической активностью новых ФС и, соответственно, точно известной зависимости «доза-эффект» для используемых средств.

«Оптимальный» ФС должен иметь интенсивный максимум поглощения в диапазоне длин волн, при которых проникновение света в биологические ткани максимально (650-850 нм). При длине волны возбуждающего излучения менее 650 нм эндогенные порфирины биологических тканей, а также процессы светорассеяния существенно ослабляют фотонный поток к фотосенсибилизированным клеткам-мишеням, тем самым снижая эффективность проводимого лечения. При длинах волн более 850 нм энергии, передаваемой от молекулы ФС, находящейся в возбужденном состоянии, оказывается недостаточно для генерации цитотоксических частиц, в частности, синглетного кислорода [20]. Кроме того, возрастающее поглощение света молекулами воды (при $\lambda > 900$ нм) также уменьшает количество энергии, достигающей молекул ФС, и существенно усиливает термическое повреждение нормальных клеток и тканей [3].

Несмотря на то, что «оптимальный» ФС пока не создан, критерии, сформулированные R. Bonnett и M.C. Berenbaum,

представляют общие принципы для сравнения различных ФС и проведения дальнейших исследований. Направленные поиски новых ФС и изучение их физико-химических и фармакологических свойств остаются приоритетными направлениями на современном этапе развития ФДТ. В качестве наиболее перспективных ФС рядом авторов рассматриваются синтетические производные природных пигментов, в частности, хлорофилла «А» и бактериохлорина.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРОФИЛЛА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ДЛЯ ФДТ

Хлорофилл «А». Природный пигмент хлорофилл «А» представляет собой замещенный тетрапиррол. В молекуле хлорофилла «А» четыре атома азота тетрапиррольных колец координированы с атомом магния. Таким образом, хлорофилл «А» представляет собой магнийпорфирин, тогда как гем является железопорфирином. Порфириновая кольцевая структура хлорофилла «А» отличается от структуры гема по нескольким параметрам: 1) одно из пиррольных колец частично восстановлено; 2) с одним из пиррольных колец слито циклопентановое кольцо; 3) в хлорофилле «А» обе кислотные боковые цепи этерифицированы, тогда как в геме они свободны. Одна из кислотных боковых цепей в хлорофилле «А» представляет собой метиловый эфир, вторая – эфир фитола. Этот многоатомный спирт состоит из четырех изопреновых единиц, которые сообщают ему высокую гидрофобность.

Хлорофилл «А» достаточно высокой степени химической чистоты и в больших количествах может быть получен путем экстракции из практически неограниченных природных ресурсов, которыми являются зеленые растения и водоросли. Субстанцию хлорофилла «А», не содержащую примесей других хлорофиллов, можно относительно легко выделить из биомассы сине-зеленой водоросли *Spirulina platensis*. Хлорофилл «А» характеризуется высоким коэффициентом экстинкции при $\lambda=660$ нм ($\varepsilon \sim 10^5$ М⁻¹см⁻¹) и

высоким квантовым выходом синглетного кислорода ($\phi_{\Delta} = 0.57$ в СС14) [21]. Хлорофилл «А» является нерастворимым в воде и очень нестабильным соединением, легко подвергающимся деградации под действием света, кислот, щелочей и спиртов. В связи с этим хлорофилл «А» не может рассматриваться в качестве фармацевтической субстанции, однако он вполне может являться исходным веществом при синтезе новых, фармацевтически приемлемых, соединений, обладающих фотосенсибилизирующей активностью [22]. Новые соединения могут быть получены путем химической модификации хлорофилла «А», не нарушающей π -электронную структуру молекулы, обуславливающую его оптические свойства. В то же время, подобная химическая модификация должна затрагивать окислительно-восстановительный потенциал молекулы и ее реакционную способность. Включение в структуру хлорофилла «А» атомов различных металлов и модификация винильного заместителя в положении С-3 и карбонильного заместителя в положении С-13¹ тетрапиррольного кольца позволяет модифицировать хлорофилл «А», улучшая при этом такие характеристики соединения, как его стабильность и реакционная способность.

В настоящее время в научной литературе отсутствуют сообщения о проведении каких-либо значимых экспериментов в условиях *in vivo* с целью изучения нативного хлорофилла «А» как потенциального ФС для ФДТ.

Хлорофиллид «А» и его производные. Хлорофиллид «А» получают из хлорофилла «А» путем гидролиза эфира фитола в положении С-17³ ферментативным путем. Реакция катализируется ферментом хлорофиллазой. В результате ферментативной [23, 24] или каталитической [25] этерификации хлорофиллида «А», равно как ферментативной [24, 25] или неферментативной [26] трансэтерификации хлорофилла «А» с различными аминокислотами (например, серином или тирозином), пептидами и белками происходит значительное усиление гидрофильности пигментов. Показано, что в возбужденном (триплетном) состоянии молекула хлорофил-

лида «А» способна к генерации синглетного кислорода ($\phi_{\Delta} = 0,3 - 0,4$) [27].

Показано, что модификация хлорофиллида «А» путем включения остатка пропионовой кислоты в положении С-17 тетрапиррольного кольца (реакция аминирования) позволяет в дальнейшем получать конъюгаты с короткими пептидами, гормонами и различными белками, играющими роль высоко специфичных лигандов, связывающихся с определенными структурами на поверхности клеток. Например, *A. Scherz и соавт.* получили конъюгат хлорофиллида «А» с меланоцит-стимулирующим гормоном, избирательно связывающийся с клетками меланомы [25]. В работе [28] показано, что производное хлорофиллида «А», полученное путем включения в его структуру аминокислоты серина, обладает в 100 раз более выраженной фототоксичностью в отношении клеток меланомы линии M2R по сравнению с коммерческим ФС Фотосан. В условиях *in vivo* было установлено, что растворимый в воде комплекс хлорофиллида «А» и серина удерживается нормальными тканями на протяжении 72 часов после введения, тогда как в опухолевых тканях клиренс данного соединения значительно медленнее. Это указывает на относительно короткий период фотосенсибилизации здоровых тканей и избирательное накопление исследуемого вещества в опухоли, что создает определенные предпосылки к использованию данного соединения в качестве ФС для ФДТ злокачественных новообразований [28]. Рядом авторов в экспериментах *in vivo* на культуре клеток пигментной меланомы M2R была показана высокая фотодинамическая активность данного соединения [25,29].

Феофорбид «А» и его производные.

При обработке хлорофилла «А» концентрированными кислотами (например, кислотой хлористоводородной) происходит удаление из его молекулы иона магния и отщепление этерифицирующего спирта, в результате чего образуется феофорбид. По сравнению с хлорофиллом «А», молекула феофорбида «А» характеризуется более высокой темновой и световой стабильностью. Кроме того, феофорбид «А» облада-

ет интенсивным максимумом поглощения в области 660 нм и высоким квантовым выходом синглетного кислорода ($\phi_{\Delta} = 0,6$) [21,30].

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* рядом авторов было показано, что применение феофорбида «А» в ФС для ФДТ обеспечивает значительно более выраженный терапевтический эффект, чем использование производных порфирина, в частности, Фотофрина [31,32]. В работе [33] *Röder и соавт.* показали, что феофорбид «А» обладает примерно в 20 раз более выраженной фототоксичностью в отношении опухолевых клеток, чем производное гематопорфирина (HrD). Причем, развитие фотодинамического эффекта в случае введения феофорбида «А» происходит по механизмам фотоцитотоксических реакций обоих типов [34]. В экспериментах на культуре клеток карциномы легкого ОАТ-75 было показано, что феофорбид «А», накапливаясь в опухолевых клетках, преимущественно локализуется в мембранных структурах комплекса Гольджи [35]. В экспериментах на крысах, на экспериментальной модели железистого рака поджелудочной железы было показано, что через 24 часа после внутривенного введения наибольшие количества феофорбида «А» обнаруживаются в клетках ретикулоэндотелиальной системы, в то время как его содержание в коже относительно невелико. Коэффициент избирательности накопления ФС в опухоли по отношению к окружающим нормальным тканям составил 6,7-13,0, что, в свою очередь, обеспечивало избирательное повреждение опухолей. При облучении опухолей светом с длиной волны 660 нм и энергией излучения 100 Дж/см² через 24 часа после внутривенного введения феофорбида «А» в дозе 9 мг/кг, полная излеченность экспериментальных животных была отмечена в 66% случаев при наблюдении в течение 120 дней [36, 37]. Авторы также показали, что высокая избирательность накопления ФС и большая глубина фотосенсибилизации опухолевой ткани при введении феофорбида «А» обеспечивают более высокую эффективность ФДТ при лечении экспериментальных опухолей поджелудочной железы у мышей по срав-

нению с 5-аминолевулиновой кислотой (30 мг/кг внутривенно, 100 Дж/см², 670 нм, через 24 часа после введения) [34]. Однако, в дальнейшем, на модели опухоли тонкой кишки HT29 были получены противоречивые данные, свидетельствующие о том, что вследствие недостаточно избирательного накопления феофорбида «А» в клетках указанной опухоли эффективность ФДТ с данным ФС ниже, чем в случае использования производных гематопорфирина (Фотофрин), а риск развития нежелательных реакций фототоксичности существенно выше [32].

Одним из основных недостатков феофорбида «А» является его невысокая растворимость в воде. Поэтому различными коллективами исследователей были предложены многочисленные производные феофорбида «А» с двумя, тремя и более карбоксильными группами. Некоторые из таких производных характеризуются более быстрой элиминацией из нормальных тканей (в течение 5-7 суток после введения), а также несколько большей фотодинамической активностью [38, 39]. Однако указанные соединения до настоящего времени так и не нашли своего клинического применения в качестве ФС для ФДТ, а их изучение ограничилось лишь отдельными экспериментами в условиях *in vitro* и на лабораторных животных.

Хлорин р6 и пурпурин 18. Пурпурин 18, содержащий в структуре своей молекулы 6-членный ангидридный цикл, образующийся вследствие окисления изопентанового пиррольного кольца Е, может быть легко получен из феофорбида «А» и его эфиров [42,43] или непосредственно из неочищенного экстракта хлорофилла «А» [44]. Пурпурин 18 является липофильным соединением, обладающим интенсивным максимумом поглощения в области 700 нм и высоким квантовым выходом синглетного кислорода ($\phi_{\Delta}=0,7$) [45]. Соединение химически стабильно и может использоваться в качестве исходного продукта при синтезе новых ФС с улучшенными свойствами [40]. Показано, что раскрытие ангидридного цикла под действием щелочей приводит к образованию растворимого в воде хлорина р6, обладающего интенсив-

ным максимумом поглощения в области 650-660 нм и квантовым выходом синглетного кислорода порядка 0,6 ($\phi_{\Delta}=0,58$ в этаноле), что делает его потенциально пригодным ФС для ФДТ [45]. В ряде работ была показана возможность получения различных водорастворимых производных пурпурина 18, обладающих улучшенными спектральными характеристиками. Так, раскрытие ангидридного цикла в молекуле метилового эфира пурпурина 18 под действием нуклеофильного реагента L-лизина приводит к образованию метилового эфира 13¹-лизинамидхлорида хлорина р6, характеризующегося смещенным в длинноволновую область спектра максимумом поглощения [40,46]. Замена винильной группы в положении 3 пиррольного кольца молекулы хлорина р6 на 1-гидроксиэтильную или 1,2-дигидроксиэтильные группы не приводит к существенным изменениям спектральных характеристик, однако существенно повышает гидрофильность полученных соответствующих производных. Рядом авторов были также получены различные производные пурпурина 18 путем замены лабильного в присутствии оснований ангидридного цикла на более устойчивый имидный цикл [46-48]. Другой подход при получении производных пурпурина 18 заключается в модификации винильной группы в пирроле А для улучшения спектральных характеристик и введения дополнительных гидрофильных заместителей в гидрофобный порфириновый макроцикл с целью изменения общей амфифильности полученных ФС и повышения их тропности к злокачественным новообразованиям [49]. А.Ф. Миронов и соавт. предложили для дальнейшего изучения в качестве потенциальных ФС для ФДТ ряд циклоимидных производных хлорина р6, содержащих при атоме азота гидроксильную, метоксильную и ацетоксильную группы, а также остатки этилового и н-пропилового спиртов [50]. Синтезированные соединения по сравнению с пурпурином 18 устойчивы в более широком диапазоне рН и, кроме того, имеют улучшенные спектральные характеристики с максимумом основной полосы поглощения в области 710-718 нм.

Пурпурин 18 имеет максимум поглощения при 700 нм, что делало бы его эффективным ФС, однако даже слабо основная среда раскрывает экзоцикл с образованием исходного хлорина рб, имеющего максимум поглощения при 665 нм. Химическая модификация винильной группы позволила получить производные с такими электроотрицательными группами, как ацетильная и формильная, причем при включении последней максимум поглощения молекулы смещается до 740 нм. Если учесть тот факт, что производные хлорофилла «А» в большинстве своем обладают интенсивным максимумом поглощения в районе 660 нм, то подобный сдвиг в красную часть спектра следует признать весьма существенным [41]. Первые эксперименты *in vitro* по изучению фотодинамической активности хлорина рб и некоторых его производных, проведенные на культурах опухолевых клеток, показали, что хлорин рб и 3-формилхлорин рб оказывают сопоставимое цитотоксическое действие в отношении клеток аденокарциномы легкого человека при облучении культуры светом соответствующей длины волны. Величина минимальной концентрации, ингибирующей рост 50% клеток в культуре (МИК50), для обоих ФС была найдена равной 4-8 мкМ/мл [40,46]. В работе [51] исследовалась противоопухолевая активность трех производных хлорина рб, а именно тринатриевой соли хлорина рб ($\lambda_{\text{макс}}=659$ нм), тринатриевой соли 3-дезвинил-3-формилхлорина рб ($\lambda_{\text{макс}}=691$ нм) и тринатриевой соли 3-дезвинил-3-ацетилхлорина рб ($\lambda_{\text{макс}}=685$ нм). Эксперименты были выполнены как на культурах клеток аденокарциномы легкого человека и В-клеточной лимфобластомы, так и на моделях перевивной опухоли карцинома Эрлиха мышей. В экспериментах *in vivo* исследуемые соединения вводились в дозе 25 мг/кг массы тела. В результате исследований было показано, что все три соединения селективно накапливаются в тканях перевивной опухоли мышей. При этом поведение изучаемых соединений в опухоли было различно. Наиболее длительное удержание в опухоли и наиболее высокий флуоресцентный контраст между

опухолью и нормальной тканью (мышца бедра) отмечался при введении 3-дезвинил-3-формилхлорина рб. Наиболее быстрое выведение и наиболее низкий флуоресцентный контраст между опухолью и мышцей бедра был зарегистрирован при введении 3-дезвинил-3-ацетилхлорина рб. Кроме того, в экспериментах на культурах клеток было показано, что тринатриевая соль хлорина рб и два его производных (3-дезвинил-3-формилхлорин рб и 3-дезвинил-3-ацетилхлорин рб) обладают фототоксичностью в отношении клеток В-клеточной лимфобластомы и аденокарциномы легкого. Однако их фотосенсибилизирующая активность оказалась также различна. Наиболее высокая фототоксичность наблюдалась у 3-дезвинил-3-формилхлорина рб. «Темновая» фототоксичность у исследуемых соединений отсутствовала. На основании полученных результатов, а также с учетом спектральных характеристик исследованных соединений авторами было сделано заключение о целесообразности дальнейшего изучения 3-дезвинил-3-формилхлорина рб в качестве потенциального ФС для ФДТ [51]. В дальнейшем, авторами были получены достаточно противоречивые результаты касательно перспективности 3-дезвинил-3-формилхлорина рб в качестве ФС для ФДТ. В экспериментах на мышцах с перевивной опухолью карцинома Эрлиха было показано, что введение 3-дезвинил-3-формилхлорина рб в дозе 5-10 мг/кг и последующее облучение опухоли светом ($\lambda=696$ нм, 90 Дж/см²), проведенное через 1-6 часов после введения ФС, вызывало тяжелые системные фототоксические реакции и гибель животных, тогда как при проведении облучения через 24 часа после инъекции ФС облучение значительно легче переносилось лабораторными животными и приводило впоследствии к умеренному торможению роста перевивной опухоли [52].

На модели перевивной опухоли глиома 9L крыс *M.W. Leach и соавт.* показали, что проведение ФДТ с использованием в качестве ФС лизиламида хлорина рб (2,5 мг/кг; 664 нм; 100 Дж/см² через 4 часа после введения ФС) обеспечивает длительное торможение роста перевивной

опухоли у лабораторных животных. Однако, авторами были отмечены тяжелые фототоксические реакции, в частности, глубокий некроз кожи и мягких тканей у всех экспериментальных животных [53].

Результаты экспериментальных исследований цитотоксических свойств различных производных хлорина рб как потенциальных ФС для ФДТ в условиях *in vitro* и *in vivo* приводятся в работах целого ряда авторов [46,52-56]. Однако, несмотря на большое количество работ, выполненных многочисленными исследователями на культурах клеток и лабораторных животных, научные поиски до настоящего времени так и не привели к созданию коммерчески доступного ФС на основе производных пурпурина 18 или хлорина рб, пригодного для клинического применения у человека.

Хлорин еб и его производные. Хлорин еб образуется в результате анаэробного щелочного гидролиза феофорбида «А» и представляет собой его производное, содержащее три карбоксильных группы. Хлорин еб обладает интенсивным максимумом поглощения в области 660 ± 5 нм и способен к генерации синглетного кислорода с высоким квантовым выходом ($\phi_{\Delta} = 0,7$) [30,45,57].

Производные хлорина еб к настоящему времени весьма тщательно изучены в экспериментах [58-62]. Ведутся исследования как по применению их в чистом виде, так и в виде конъюгатов с биологическими молекулами [63-70]. Имеющиеся в настоящее время данные о клиническом применении производных хлорина еб демонстрируют его высокую фотодинамическую активность при различных формах злокачественных новообразований, а также при ряде неопухолевых заболеваний [71]. Отличительной особенностью современных ФС на основе хлорина еб является относительно быстрое выведение из организма. Продолжительность периода повышенной светочувствительности при системном введении не превышает 7 дней.

В 1984 г. американские ученые (J. Bommer, V. Burnham) первыми сообщили о создании ФС, отвечающего наиглавнейшим требованиям: сочетание хорошего на-

копления в опухоли с интенсивным поглощением в дальней (660 ± 5 нм) красной части спектра. Этим ФС был моно-L-аспартил-хлорин еб (MACE), запатентованный в 1986 г. Nippon Petrochemicals Company (Япония) и лицензированный Meiji Seika Kaisha (Япония и Юго-Восточная Азия) и Light Sciences (Япония и США) [72,73]. Моно-L-аспартил-хлорин еб (Npeб) получают путем аминирования остатка уксусной кислоты в молекуле хлорина еб в реакции взаимодействия с L-аспарагиновой кислотой [74]. Конечное соединение (Npeб) характеризуется повышенной гидрофильностью [75] и достаточно высоким квантовым выходом синглетного кислорода ($\phi_{\Delta} = 0,77$) [57]. В настоящее время это средство находится на II фазе клинических исследований в США по протоколу лечения поверхностных опухолей и III фазе клинических исследований в Японии по протоколам лечения рака кожи и ранних стадий рака легкого. В США идут исследования I фазы по протоколам: атеросклероз, ревматоидный артрит и в офтальмологии [76].

В странах Европейского Союза в настоящее время зарегистрирован и широко применяется в клинической практике ФС на основе производного хлорина - мезотетра-(гидрофенил)-хлорин, который был первоначально синтезирован в 1989 г. группой ученых из Великобритании под руководством R. Bonnet [77]. Данное средство получило дальнейшую известность под коммерческими названиями Фоскан и Темопорфин. В 2002 г. компания Biolitec (Швейцария) приобрела у Scotia Quanta Novaplc. (Великобритания) все права на это средство и начала его активное продвижение на рынке стран Европейского Союза. В результате проведенных экспериментальных исследований было показано, что Фоскан обладает значительно более высокой фотодинамической активностью и высоким квантовым выходом синглетного кислорода по сравнению с ФС на основе производных порфирина [78], что позволяет применять его в значительно меньших дозах (0,15 мг/кг) и использовать для ФДТ низкоинтенсивное лазерное излучение (30 Дж/см^2). В настоящее время

данный ФС успешно применяется при лечении опухолей головы и шеи, ведутся исследования по применению ФДТ с Фосканом при других локализациях злокачественных новообразований [79]. Несмотря на явные преимущества по сравнению с ФС на основе производных гематопорфирина, Фоскан обладает рядом существенных недостатков. В частности, мезотетра-(гидрофенил)-хлорин является гидрофобным веществом, поэтому перед внутривенным введением его необходимо растворить в смеси полиэтиленгликоль: этанол: вода (3:2:5 по объему), что в значительной степени повышает риск развития системных токсических осложнений у больных при проведении лечения. Кроме того, недостатком Фоскана является медленная скорость выведения из организма (2 недели после внутривенной инъекции) и высокая кожная фототоксичность. В практике интервал между введением ЛС и проведением сеанса ФДТ составляет 96 ч, причем, все это время пациент должен находиться в темном помещении. Инъекции Фоскана очень болезненны, что также негативно сказывается на приверженности больных к лечению.

В Российской Федерации на основе производных хлорина еб были разработаны два новых ФС – средства: Фотодитазин и Радахлорин. Фотодитазин был разработан в компании ООО «Вета-Гранд» (Россия). ФС представляет собой ди-N-метилглюкаминую соль хлорина еб. ФС обладает интенсивным максимумом поглощения в области 660-665 нм и достаточно высоким квантовым выходом синглетного кислорода ($\phi_{\Delta} = 0,6-0,7$) [80]. В настоящее время имеются данные об успешном применении данного ФС при лечении злокачественных опухолей кожи, опухолей слизистых оболочек, центрального рака легкого [4, 80-84]. В 1994-2001 годах в России была разработана технология извлечения из растительного сырья, в частности, из микроводорослей рода *Spirulina*, комплекса биологически активных хлоринов [85,86] (циклических тетрапирролов хлориновой природы – порфиринов с гидрированным кольцом D), содержащих в качестве основного компонента хлорин еб

(70-90%). Это ФС также характеризуется интенсивным поглощением в области 660 ± 5 нм, улучшенными параметрами фармакокинетики, низкой «темновой» токсичностью, что делает его перспективным ФС для дальнейшего клинического изучения. В настоящее время в России завершены клинические испытания по применению ФС Радахлорин при лечении базальноклеточного рака кожи, проводятся исследования I-II фазы в отоларингологии и офтальмологии [87]. Основными недостатками данного ФС является то, что фармацевтическая субстанция, используемая в производстве, представляет собой смесь веществ, что создает трудности при фармацевтической стандартизации и контроле качества готовой лекарственной формы. Кроме того, при производстве ФС вероятно появление в смеси иных компонентов, чем указаны в нормативной документации по контролю качества, что может привести к повышению токсичности и изменению других фармакологических свойств ЛС.

Республика Беларусь является пионером в области ФДТ среди стран бывшего СССР. Под руководством проф. Г.П. Гуриновича в Институте фотобиологии и физики НАНБ в 90-е годы XX века был изготовлен из листьев крапивы первый отечественный ФС – «Хлорин еб». В ГУ «НИИ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» (Минск, Республика Беларусь) были выполнены экспериментальные исследования по изучению возможностей использования хлорина еб для ФДТ злокачественных новообразований, а затем проведены I и II фазы клинических испытаний при лечении внутрикожных и подкожных метастазов меланомы и рака молочной железы, плоскоклеточного и базальноклеточного рака кожи [63,88-91]. Как было отмечено ранее, в технологии получения данного ФС предусматривалось использование в качестве исходного сырья листьев крапивы. В литературе отсутствуют сведения о точном составе получаемой фармацевтической композиции, однако, по всей видимости, использование вышеуказанного сырья, содержащего смесь хлорофиллов «А» и «В», позволяло получать в конечном итоге субстанцию, подобную

экстракту из листьев люцерны, описанную E. Snyder [92]. Подобная смесь могла содержать более 10 производных хлорофиллового ряда. Вероятно, это обуславливало ее низкую химическую стойкость и пониженную растворимость в воде, а также приводило к необходимости применения относительно высоких терапевтических доз (3-5 мг/кг). Несмотря на проведенные экспериментальные и клинические исследования, разработчикам данного ФС так и не удалось получить разрешение Министерства здравоохранения Республики Беларусь на его клиническое применение.

В это же время специалистами научно-исследовательских подразделений предприятия «Белмедпрепараты» был выполнен цикл работ, направленных на разработку технологии получения субстанции и готовой лекарственной формы принципиально нового ФС, впоследствии получившего известность под коммерческим названием Фотолон [93]. Фотолон содержит в качестве активной фармацевтической субстанции 18-карбокси-20-(карбоксиметил)-8-этиленил-13-этил-2,3-дигидро-3,7,12,17-тетраметил-21Н, 23Н-порфин-2-пропионовую кислоту (хлорин еб). В лекарственном средстве Фотолон хлорин еб присутствует в виде тринатриевой соли. В качестве вспомогательного вещества в состав лекарственной формы входит поливинилпирролидон низкомолекулярный медицинский, взятый в соотношении (1:1) с хлорином еб.

Хлорин еб получают из биомассы водоросли *Spirulina platensis*. Выбор сырья обусловлен относительно высоким содержанием в биомассе хлорофилла «А» (до 1 %) и отсутствием в ней хлорофилла «Б», что позволяет получать хлорин еб с высоким содержанием основного вещества и минимальным количеством примесей. С этой целью также все партии сырья контролируют на содержание хлорофилла «А». Технология получения субстанции включает стадии экстракции хлорофилла, выделения феофитина и получения из него высокоочищенного хлорофилла еб. Процессы ведут с соблюдением соответствующих температурных и световых режимов в инертной атмосфере. Высокое качество и

стандартность сырья, а также соблюдение технологии гарантируют стабильное получение субстанции с высоким содержанием основного вещества (хлорофилла еб).

Хроматографический анализ Фотолона показал его достаточно высокую чистоту. Содержание хлорофилла еб среди родственных тетрапиррольных пигментов составляет более 90% [94,95]. Изучение спектральных характеристик Фотолона позволило установить свойственное фотосенсибилизаторам второго поколения интенсивное поглощение в длинноволновой области спектра (652-663 нм), высокий квантовый выход синглетного кислорода ($\Phi_{\Delta} = 0,8$) [96-98]. Было установлено, что особые спектральные характеристики Фотолона обусловлены комплексообразованием пигмента с ПВП и его фиксации на полимерной цепочке [96]. Подобная модификация физико-химических свойств позволяет рассчитывать на некоторое усиление фотосенсибилизирующей активности Фотолона по сравнению с хлорином еб, а также на модуляцию фармакологической активности препарата *in vivo*.

Оценке физико-химических и фармакологических свойств ФС Фотолон посвящено большое количество работ отечественных и зарубежных авторов [94-105]. В частности, Н.А. Isakau и соавт. показали, что в растворе ПВП взаимодействует с хлорином еб и образует молекулярные комплексы «хлорин еб-ПВП» [96]. Исследователи доказали, что взаимодействие с ПВП препятствует агрегации хлорофилла еб в водной среде, гидролизу соли хлорофилла еб, а также улучшает растворимость более гидрофобных сложных эфиров пигмента в водной среде. Одновременно, фотофизические эксперименты с растворами хлорофилла еб и комплекса «хлорин еб-ПВП» показали, что связанные с ПВП молекулы хлорофилла еб имеют повышенную фотодинамическую активность и флуоресценцию по сравнению с нативным хлорином еб [97,98]. Образование комплекса «хлорин еб-ПВП» повышает стабильность ФС и его растворимость в воде. Следовательно, можно ожидать повышения биодоступности ЛС и изменения его фармакокинетических характеристик [106]. Кроме того,

присоединение хлорина еб к полимеру способствует пассивной доставке лекарственного соединения в опухоль за счет «EPR-эффекта», который основан на большей проницаемости сосудов опухоли, чем сосудов здоровых тканей, поэтому циркулирующее средство легче диффундирует в опухолевую ткань [107]. Это объясняет более высокую селективность накопления Фотолон в злокачественных опухолях по сравнению с нативным хлорином еб [93,99-101]. После внутривенного введения Фотолон, его максимальное количество в опухоли регистрируется через 3 ч, затем концентрация активного вещества медленно снижается; через 24 ч в крови обнаруживаются следовые количества ФС.

В настоящее время высокая клиническая эффективность фотодинамической терапии с ЛС Фотолон показана при лечении злокачественных опухолей кожи и слизистых оболочек [93, 108], диссеминированных форм меланомы [108,109], центрального рака легкого [110], цервикальных интраэпителиальных неоплазий [108, 111], центральной инволюционной хориоретинальной неоваскуляризации [112]. Проводятся клинические исследования по применению метода ФДТ с ЛС Фотолон при лечении злокачественных опухолей головного мозга [113], рака мочевого пузыря [114].

Таким образом, Фотолон является одним из наиболее хорошо изученных ФС на основе хлорина еб, причем, эффективность и безопасность его клинического применения была доказана в целом ряде клинических испытаний, проведенных в Республике Беларусь и других странах. ЛС Фотолон обладает рядом существенных преимуществ перед своими ближайшими аналогами (практически отсутствующая фототоксичность, высокая избирательность накопления в патологических тканях, быстрое выведение из организма, возможность проведения ФДТ на глубину до 3 см, отсутствие необходимости для пациентов соблюдать жесткий световой режим, приемлемая коммерческая стоимость).

Обобщая вышеизложенное, можно сделать вывод о том, что спектральные ха-

рактеристики производных природного пигмента хлорофилла и их низкая темновая токсичность позволяют считать эти соединения потенциальными ФС для ФДТ различных заболеваний. Однако не все производные хлорофилла в их нативной форме в одинаковой степени пригодны в качестве фармацевтического сырья для производства готовых лекарственных форм. В то же время, необходимо отметить, что производные хлорофилла зачастую являются практически безальтернативными исходными соединениями для синтеза несимметричных хлоринов и порфиринов, а также ряда других соединений с улучшенными физико-химическими и токсико-фармакологическими свойствами. В таблице 1 приведены основные характеристики некоторых производных природного хлорофилла, активно изучавшихся различными коллективами авторов в качестве потенциальных соединений для создания «оптимального» ФС для ФДТ.

Как следует из приведенных в таблице 1 данных, хлорины, в частности хлорин еб и хлорин рб, принадлежат к перспективным ФС, поскольку характеризуются высокой фотодинамической активностью и меньшим количеством известных нежелательных эффектов по сравнению с первым поколением фотосенсибилизаторов. Наиболее широко изучаемыми в настоящее время хлоринами являются хлорин еб (Seб), мезотетрагидроксифенил хлорин (mTHPC или FOSCAN), моно-L-аспартил хлорин еб (NPeб). Показано, что сопряжение молекул хлорина еб с полимерами, такими как полиэтиленгликоль и N-(2-гидроксипропил) метакриламид, поливинилпирролидон, позволяет существенно повысить растворимость ФС в физиологических средах. Это позволяет рассчитывать на улучшение биодоступности ФС для целевых органов и тканей, повысить избирательность накопления ФС в патологических тканях, улучшить его фармакокинетические характеристики. В настоящее время в мире насчитывается не более одного десятка ФС на основе производных хлорофилла, разрешенных к клиническому применению либо находящихся на стадии

клинических испытаний в различных странах (таблица 2).

Таблица 1 – Основные свойства отдельных производных хлорофилла «А», активно изучаемых в качестве потенциальных фотосенсибилизаторов для ФДТ

Соединение	Максимум поглощения в длинноволновой области спектра, нм	Квантовый выход синглетного кислорода, $\Phi\Delta$	Примечание
Хлорофилл «А»	660±5	0,6	Является нерастворимым в воде и очень нестабильным соединением, легко подвергшимся деградации под действием света, кислот, щелочей и спиртов.
Хлорофиллид «А»	685±5	0,4	Относительно невысокий квантовый выход синглетного кислорода.
Феофорбид «А»	660±5	0,6	Невысокая растворимость в воде, недостаточная селективность накопления в опухолевых клетках, относительно высокий риск системных фототоксических реакций.
Пурпурин 18	700±5	0,7	Не устойчив в средах с слабо основной реакцией. В подобных условиях происходит раскрытие экзоцикла молекулы пурпурина 18 с образованием хлорина рб.
Хлорин рб	665±5	0,6	Являются наиболее перспективными соединениями для получения их различных производных и создания ФС для ФДТ.
Хлорин еб	665±5	0,7	

Таблица 2 – Фотосенсибилизаторы на основе производных хлорофилла, разрешенные к клиническому применению или находящиеся на завершающихся стадиях клинических испытаний

ФС / компания / страна происхождения	Активное вещество	Длина волны, нм	Показания к применению / Официальный статус
1	2	3	4
Foscan / Biolitec / Ирландия	Мезо-тетра-гидроксифенил хлорин	660	Рак головы и шеи. Опухоли пищевода и желудка. Проводятся клинические испытания эффективности ФС при ФДТ опухолей головного мозга. ЛС зарегистрировано в большинстве стран Европейского Союза.
1	2	3	4
Нреб / Nippon Petrochemicals Company / Япония	Моно-L-аспартил хлорин еб	664	Завершена 1-2 фазы клинических испытаний при лечении кожных опухолей. Проводятся клинические испытания в офтальмологии, при лечении ранних стадий рака легкого, атеросклероза, ревматоидного артрита. Нет официальной регистрации ФС.
LS11 / Light Science / США	Талапорфин натрия	664	В настоящее время в литературе отсутствуют сведения о результатах клинических испытаний данного ФС. ФС не зарегистрирован.

ФС / компания / страна происхождения	Активное вещество	Длина волны, нм	Показания к применению / Официальный статус
Photochlor / Rosewell Park Cancer Institute	2-1-(гексил-оксиэтил)-2-дезвинил-пирофеофорбид «А»	665	Проводятся клинические испытания эффективности ФС при ФДТ опухолей пищевода, желудка, немелкоклеточного рака легкого.
LCP / Nippon Petrochemicals Company / Япония	Лизил-хлорин рб	650	Проводятся клинические испытания эффективности ФС в лечении рака кожи, а также в офтальмологии. Нет официальной регистрации ФС.
Фотодитазин / Вета-Гранд / Россия	Хлорин еб (около 60%) + другие производные хлорофилла «А»	660	Поверхностные опухоли кожи (включая базально-клеточный, плоскоклеточный рак, кожные метастазы солидных опухолей). Проводятся клинические испытания в офтальмологии, гинекологии, при лечении центрального рака легкого, опухолей полости рта. ЛС зарегистрировано в Российской Федерации с 2006 г.
Радахлорин / Рада-Фарма / Россия	Хлорин еб (около 60%) + другие производные хлорофилла «А»	660	Злокачественные опухоли кожи, включая меланому. Проводятся клинические испытания эффективности ФС при лечении гнойно-некротических и воспалительных поражений кожи и мягких тканей. ЛС зарегистрировано в Российской Федерации с 2006 г.
Фотолон / РУП «Белмедпрепараты» / Республика Беларусь	Молекулярный комплекс хлорина еб и ПВП	665	Злокачественные опухоли кожи и слизистых оболочек (включая базально-клеточный и плоскоклеточный рак, метастазы меланомы и рака молочной железы, десиминированные формы меланомы, рак губы, вульвы, дна рта); цервикальные интраэпителиальные неоплазии II-III ст.; интраоперационная ФДТ первично-мозговых и метастатических опухолей головного мозга; макулярная дегенерация и центральная инволюционная хориоретинальная дистрофия. Проводятся клинические испытания эффективности ФС при лечении рака легкого, рака мочевого пузыря, предопухоловой патологии пищевода (включая пищевод Баррета) и желудка, гнойно-некротических процессов в коже и мягких тканях, парапанкреонекроза. ЛС зарегистрировано в Республике Беларусь с 2001 г, в Российской Федерации – с 2004 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из перспективных ФС на основе хлорина еб, среди официально разрешенных к клиническому применению, является лекарственное средство Фотолон, разработанное РУП «Белмедпрепараты». В

настоящее время показана клиническая эффективность и безопасность данного ФС при лечении злокачественных опухолей различных морфологических типов и локализаций, а также ряда неопухолевых заболеваний. Существуют достаточно подробные сведения о физико-химических и

фармацевтических свойствах ФС Фотолон. В то же время, процессы биораспределения и биодоступности ЛС Фотолон, его метаболические превращения в условиях *in vivo*, молекулярные и биохимические механизмы цитотоксического действия остаются недостаточно изученными. В настоящее время в Республике Беларусь и в ряде стран мира проводятся дополнительные клинические исследования по изучению эффективности ФС Фотолон при лечении различных категорий больных, разрабатываются новые протоколы проведения сеансов фотодинамической терапии. В то же время представляется целесообразным проведение дальнейших экспериментальных исследований с целью получения подробных сведений о процессах распределения этого ФС в нормальных и патологических тканях организма, его взаимодействии с клетками и субклеточными структурами. Это позволит оптимизировать существующие режимы ФДТ с Фотолоном, а также повысить эффективность и безопасность проводимого лечения.

SUMMARY

S.V. Shlyakhtin, T.V. Trukhachova

THE POTENTIAL AND PROSPECTIVE USE OF CHLOROPHYLL DERIVATIVES FOR THE DEVELOPMENT OF EFFECTIVE AND SAFE PHOTOSENSITIZERS FOR PHOTODYNAMIC THERAPY (LITERARY REVIEW)

The paper provides an overview of the literary data on potential use of the natural pigment chlorophyll "A" and its derivatives as active pharmaceutical ingredients for the development of novel medications for photodynamic therapy of malignant tumors and several non-oncological diseases. A special focus is made on physical, chemical, toxicological and pharmacokinetic properties of various derivatives of the chlorophyll, which are intensively studied by domestic and foreign researchers as potential photosensitizers of a new generation. The paper also provides the discussion on major advantages and disadvantages of a number of medical products based on chlorophyll derivatives which are already approved for medical use in different

countries worldwide or which are under the clinical investigation.

Keywords: photodynamic therapy, photosensitizer, chlorophyll derivatives, chlorines.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dougherty, T.J. Photodynamic therapy / T.J. Dougherty [et.al.] // J. Natl. Cancer Inst. – 1998. – Vol.90 (12) – P. 889-905.
2. Bonnett, R. Photodynamic therapy in historical perspective / R. Bonnett // Rev. Contemp. Pharmacother. – 1999. – Vol.10. – №1. – P.1-17.
3. MacDonald, I.J. Basic principles of photodynamic therapy / I.J. MacDonald, T.J. Dougherty // J. Porphyrins Phthalocyanines. – 2001. – Vol.5. – P.105-129.
4. Клинические аспекты фотодинамической терапии. / А.Ф. Цыб [и др.] // изд. науч. лит. - Калуга, 2009. – С. 13-25.
5. Raab, O. Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien. / O. Raab // J. Biol. – 1900. – Vol.39. – P. 524-529.
6. Tappeiner, H. Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien nach Versuchen von O. Raab. / H.Tappeiner // Munch. Med. Wschr. – 1900. – Vol.47. – P. 5-7.
7. Современный взгляд на механизм фотодинамической терапии. Фотосенсибилизаторы и их биодоступность. / М.Д. Ягудев [и др.] // Урология. – 2006. – Т.5. – С. 94-98.
8. Jesionek, A. On the treatment of skin cancers with fluorescent substances / A.Jesionek, H.von Tappeiner // Arch. Klin. Med. – 1905. – Vol. 82. – P. 223-227.
9. Hausmann, W. The sensitizing action of haematoporphyrin / W. Hausmann // Biochem. Z. – 1911 – Vol. 30 – P. 276-316.
10. Fischer, H. Formation of porphyrins / H. Fischer, F. Meyer-Betz // Z. Physiol. Chem. – 1912. – Vol. 82. – P. 96-108.
11. Fischer, H. Toxicity, sensitizing power and spectroscopic behavior of the natural porphyrins / H. Fischer // Z. Physiol. Chem. – 1916. – Vol. 97. – P.109-127.
12. Schwartz, S. Some relationships of porphyrins, X-rays and tumors / S. Schwartz, K. Absolon, H. Vermund // Univ. Minesota Med. Bull. – 1955. – Vol. 27. – P. 7-13.

13. Hematoporphyrin derivative for the detection of cervical cancer / R.I. Lipson [et.al.] // *Obster. Gynecol.* – 1964. – Vol. 26. – P. 78-84.
14. Monitoring photoproduct formation and photobleaching by fluorescence spectroscopy has the potential to improve PDT dosimetry with a verteporfin-like photosensitizers / H. Zeng [et.al.] // *Photochem. Photobiol.* – 2002. – Vol. 75, №4. – P. 398-405.
15. Photodynamic therapy of malignant tumors / I. Diamond [et.al.] // *Lancet.* – 1972. – Vol. 2, №7788. – P.1175-1177.
16. Bonnett, R. Porphyrins as photosensitizers. / R. Bonnett, M.C. Berenbaum // *Photosensitizing compounds: their chemistry, biology and clinical use* / editors G. Bock, S. Harriett - Ciba foundation symposium (Chichester) – Wiley, 1989. – P. 40-53.
17. Kalka, K. Photodynamic therapy in dermatology / K. Kalka, H. Merk, H. Mukhtar // *J. Amer. Acad. Dermatol.* – 2000. – Vol. 42, №3. – P. 389-413.
18. Huang, Z. A review of progress in clinical photodynamic therapy / Z. Huang // *Technol. Cancer Res. Treat.* – 2005. – Vol. 4, №3. – P. 283-293.
19. Luksiene, Z. Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficacy of treatment / Z. Luksiene // *Medicina.* – 2003. – Vol. 39, №12. – P. 1137-1150.
20. Moan, J. Properties for optimal PDT sensitizers / J. Moan // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* – 1990. – Vol. 5. – P. 521–524.
21. Photophysical studies of pheophorbide and pheophytin a. Phosphorescence and photosensitized singlet oxygen luminescence. / A.A. Krasnovsky Jr. [et.al.] // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol* – 1990. – Vol.5. – P. 245–254.
22. Spikes, J.D. Chlorophyll and related pigments as photosensitizers in biology and medicine. / J.D. Spikes, J.C. Bommer // *Chlorophylls* / editor H. Scheer - CRC Press – 1991. - P. 1181-1204.
23. Fiedor, L. The stereospecific interaction between chlorophylls and chlorophyllase. Possible implication for chlorophyll biosynthesis and degradation. / L. Fiedor, V. Rosenbach-Belkin, A. J. Scherz // *Biol. Chem.* – 1992. – Vol. 267. – P. 22043–22047.
24. Preparation of tetrapyrrole-amino acid covalent complexes / L. Fiedor [et.al.] // *Plant Physiol. Biochem.* – 1996. – Vol. 34. – P. 393–398.
25. Scherz, A. Chlorophyll and bacteriochlorophyll derivatives, their preparation and pharmacological compositions comprising them as photosensitizers for photodynamic therapy / A. Scherz, Y. Salomon, L. Fiedor // *EP Appl.* – 1994. – Vol. 584552. – P. 32.
26. Synthesis and photodynamic activity of chlorophyll and bacteriochlorophyll esters: PCT Patent PCT WO01/40232, A61K 41/00 (2006.01), C07D 487/22 (2006.01), C07H 13/04 (2006.01), C07H 13/10 (2006.01) / H. Scheer, N. Kammhuber, A. Scherz, A. Brandis, Y. Solomon; Applicant: Yeda Research and Development Co. Ltd. – IAP №PCT/IL2000/000811; filed on 01.12.2000; published on 07.06.2001 // World Intellectual Property Organization [Electronic Resource] – Mode of access: <http://www.wipo.int/pctdb/en/> - date of access: 02.07.2010.
27. A pulsed laser and pulse radiolysis study of amphiphilic chlorophyll derivatives with PDT activity toward malignant melanoma / L. Fiedor [et.al.] // *J. Photochem. Photobiol.* – 1993. – Vol. 58. – P. 506–511.
28. Serine conjugates of chlorophyll and bacteriochlorophyll: Photocytotoxicity in vitro and tissue distribution in mice bearing melanoma tumors. / V. Rosenbach-Belkin [et.al.] // *J. Photochem. Photobiol.* – 1996. – Vol.64. – P. 174–181.
29. Application of chlorophyll and bacteriochlorophyll derivatives to PDT of malignant melanoma / I. Tregub [et.al.] // *Biologic Effects of Light* / editors M.F. Holick and A.M. Kligman - Walter de Gruyter, Berlin-New York – 1992. – P. 354–361.
30. Fernandez, J.M., Singlet oxygen generation by photodynamic agents / J.M. Fernandez, M.D. Bilgin, L.I. Grossweiner // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* – 1997. – Vol.37. – P. 131-140.
31. Human pancreatic carcinoma cells are sensitive to photodynamic therapy in vitro and in vivo. / A. Hajri [et.al.] // *Br. J. Surg.* – 1999. – Vol. 86. – P. 899-906.
32. In vitro and in vivo efficacy of Photofrin, pheophorbide a and bacteriochlorin in photo-

- dynamic therapy of colonic cancer cells / A. Hajri [et.al.] // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* – 2002. – Vol.75. – P.140-148.
33. Röder, B. Pheophorbides / B. Röder // *Photodynamic tumor therapy: 2nd and 3rd generation photosensitizers* / editor J.G. Moser - Harwood, London – 1998. – P. 35-41.
34. Tanielian, C. Mechanisms of photodynamic activity of pheophorbides / C.Tanielian, M. Kobayashi, C.J. Wolff // *Biomed. Opt.* – 2001. – Vol.6. – P.252-256.
35. Moser, J.G. Photodynamic cancer therapy: fluorescence localization and light absorption spectra of chlorophyll-derived photosensitizers inside cancer cell / J.G. Moser, A. Ruk, H-J. Schwarzmaier, C.Westphal-Frosch // *Opt. Eng.* – 1992. – Vol.31. – P.1441-1446.
36. Distribution of pheophorbide a in normal tissues and in experimental pancreatic cancer in rat /M. Aprahamian [et.al.] // *Anticancer Drug Design.* – 1993. – Vol. 8. – P. 101-114.
37. Experimental pancreatic cancer in the rat treated by photodynamic therapy / S. Evrard [et.al.] // *Br. J. Surg.* – 1994. – Vol. 81. – P. 1185-1189.
38. Chlorin and porphyrin derivatives as potential photosensitizers in photodynamic therapy / R.K. Pandey [et.al.] // *J. Photochem. Photobiol.* – 1991. – Vol.53. – P. 65-72.
39. Structure/activity relationships among photosensitizers related to pheophorbides and bacteriopheophorbides / R.K. Pandey [et.al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 1992. – Vol. 2. – P. 491-496.
40. Synthesis of chlorine and bacteriochlorin type photosensitizers for photodynamic therapy / K.M. Smith [et.al.] // *Photodynamic therapy and Biomedical Lasers* // editors P. Spinelli, M. Dal Fante, R. Marchesini - Elsevier Science Publishers B.V. – Amsterdam, 1992. – P. 769-773.
41. Миронов, А.Ф. Фотодинамическая терапия рака – новый эффективный метод диагностики и лечения /А.Ф. Миронов // *Соросовский образовательный журнал.* – 1996. – №8. – С. 32-40.
42. Kenner, G.W. Pyrroles and related compounds. Part XXIV: Separation and oxidative degradation of chlorophyll derivatives / G.W. Kenner, S.W. Mc Combie and K.M. Smith // *J. Chem. Soc-Perkin-Trans.* – 1973. – Vol.1. – P. 2517–2523.
43. Hooper, J.K. Photodynamic sensitizers from chlorophyll: Purpurin-18 and chlorin p6 / J.K. Hooper, T.W. Sery, H. Yamamoto // *J. Photochem. Photobiol.* – 1988. – Vol.48. – P. 579–582.
44. Mironov, A.F. Sensitizers of second generation for photodynamic therapy of cancer based on chlorophyll and bacteriochlorophyll derivatives / A.F. Mironov, A.N. Kozyrev, A.S. Brandis // *Proc. SPIE.* – 1993. – Vol.1922. – P. 204–208.
45. Photophysical and photochemical properties of potential porphyrin and chlorin photosensitizers for PDT / E. Zenkevich [et.al.] // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* – 1996. – Vol.33. – P.171–180.
46. Lee, S.J.H. Use of the chlorophyll derivative, purpurin-18, for syntheses of sensitizers for use in photodynamic therapy / S.J.H. Lee, N. Jagerovic, K.M. Smith // *J. Chem. Soc-Perkin Trans.* – 1993. – Vol.1. – P.2369–2377.
47. Syntheses of stable bacteriochlorophyll derivatives as potential photosensitizers for photodynamic therapy / A.N. Kozyrev [et.al.] // *Tetrahedron Lett.* – 1996. – Vol.37. – P. 6431–6434.
48. Synthesis, photophysical properties, tumor uptake, and preliminary in vivo photosensitizing efficacy of homologous series of 3-(1'-alkoxy)ethyl-3'-devinylpurpurin-18-n-alkylimides with variable lipophilicity / G. Zheng [et.al.] // *J. Med. Chem.* – 2001. – Vol.44. – P.1540–1559.
49. Bonnett, R. Chemical aspects of photodynamic therapy / R. Bonnett // *Advanced Chemistry Texts – Vol.1* / editors D. Phillips, P. O'Brien, S. Roberts - Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam, 2000. – P. 129–147.
50. Миронов, А.Ф. Синтез и химические превращения N-гидрокси- и N-гидроксиалкилциклоимидов хлороина р6 / А.Ф. Миронов, Р.Д. Рузиев, В.С. Лебедева // *Биоорганическая химия.* – 2004. – Т.30, №5. – С. 520-530.
51. Хлорин р6 и его производные как новые фотосенсибилизаторы для фотодинамической терапии рака / В.И. Чиссов [и

- др.] // Российский онкологический журнал. – 1999. – №5. – С. 22-25.
52. Influence of the substitution of 3-vinyl by 3-formyl group on the photodynamic properties of chlorin p6: Molecular, cellular and in vivo studies / A. Grichine [et.al.] // J. Photochem. Photobiol. – 2001. – Vol.73. – P. 267–277.
53. In vitro photodynamic effects of lysyl chlorin p6: Cell survival, localization and ultrastructural changes / M.W. Leach [et. al.] J. Photochem. Photobiol. – 1993. – Vol.58. – P. 653–660.
54. Purpurinimides as photosensitizers: Effect of the presence and position of the substituents in the in vivo photodynamic efficacy. / A. Rungta [et.al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2000. – Vol.10. – P. 1463–1466.
55. A first comparative study of purpurinimide-based fluorinated vs. nonfluorinated photosensitizers for photodynamic therapy / A.L. Gryshuk [et.al.] // J. Photochem. Photobiol. – 2002. – Vol.76. – P. 555–559.
56. Long-wave length Water Soluble Chlorin Photosensitizers Useful for Photodynamic Therapy and Diagnosis of Tumors. Patent 5,330,741 (07/1994) USA; C07D 487/00 (20060101); C07D 487/22 (20060101); A61K 41/00 (20060101); A61K 031/40; C07D 487/22/ / K.M. Smith, S.-J.H. Lee; Applicant: The Regents of the University of California – IAP № 07/840,347; filed on 24.02.1992; published on 19.07.1994 // United States Patent and Trademark Office [electronic resource] – Mode of access: <http://patft.uspto.gov/netahtml/PTO/srchnum.htm> – date of access: 02.07.2010
57. Spikes, J.D. Photosensitizing properties of mono-L-aspartyl chlorin e6 (Npe6): A candidate sensitizer for the photodynamic therapy of tumors / J.D. Spikes, J.C. Bommer // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 1993. – Vol.17. – P. 135–143.
58. Photodynamic therapy with chlorin e6. A morphological study of tumor damage efficiency in experiment / G.A. Kostenich [et.al.] // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 1991. – Vol.11. – P. 307–318.
59. Sensitivity of different rat tumor strains to photodynamic treatment with chlorin e6 / G.A. Kostenich [et.al.] // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 1993. – Vol.17. – P. 187–194.
60. Kostenich, G.A. Experimental grounds for using chlorin e6 in the photodynamic therapy of malignant tumors / G.A. Kostenich, I.N. Zhuravkin, E.A. Zhavrid // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 1994. – Vol. 22. – P. 211–217.
61. Kessel, D. Pharmacokinetics of N-aspartyl chlorin e6 in cancer patients / D. Kessel // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 1997. – Vol. 39. – P. 81–83.
62. Kessel, D. Sites of photodamage induced by photodynamic therapy with a chlorin e6 triacetoxymethyl ester (CAME) / D. Kessel, R.D. Poretz // J. Photochem. Photobiol. – 2000. – Vol. 71. – P. 94–96.
63. Goff, B.A. Photoimmunotherapy of human ovarian-carcinoma cells ex vivo / B.A. Goff, M. Bamberg, T. Hasan // Cancer Res. – 1991. – Vol. 51. – P. 4762–4767.
64. Goff, B.A. Experimental photodynamic treatment of ovarian-carcinoma cells with immunoconjugates / B.A. Goff, M. Bamberg, T. Hasan // Antib. Immunoconjug. Radiopharm. – 1992. – Vol. 5. – P. 191–199.
65. Photoimmunotherapy and biodistribution with an Oc125-chlorin immunoconjugate in an in vivo murine ovarian-cancer model / B.A. Goff [et.al.] // Br. J. Cancer 1994. – Vol. 70. – P. 474–480.
66. Cavanaugh, P.G. Synthesis of chlorin e6-transferrin and demonstration of its light-dependent in vitro breast cancer cell killing ability / P.G. Cavanaugh // Breast Cancer Res. Treat. 2002. – Vol.72. – P. 117–130.
67. Epidermal growth factor-mediated targeting of chlorin e6 selectively potentiates its photodynamic activity / A. Gijssens [et.al.] // Cancer Res. – 2000. – Vol. 60. – P. 2197–2202.
68. Gijssens, A. Photocytotoxic action of EGF-PVA-Sn(IV)chlorin e6 and EGF-dextran-Sn(IV)chlorin e6 internalizable conjugates on A431 cells / A. Gijssens, P. de Witte // Int. J. Oncol. – 1998. – Vol. 13. – P. 1171–1177.
69. Cellular uptake and subcellular distribution of chlorin e6 as functions of pH and interactions with membranes and lipoproteins / H.Mojzisoва [et.al.] // Biochimica et Biophysica Acta. – 2007. – Vol.1768. – P.2748–2756.

70. Embleton, M.L., (2002) Selective lethal photosensitization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using an IgG-tin(IV) chlorin e6 conjugate / M.L. Embleton // *J. Antimicrob Chemother.* – 2002. – Vol. 50. – P. 857–864.
71. Juzeniene, A. Chlorin e6-based photosensitizers for photodynamic therapy and photodiagnosis / A. Juzeniene // *J. Photodiagn. Photodyn. Ther.* – 2009. – Vol. 6 (2). – P. 94–96.
72. Tetrapyrrole therapeutic agents. Patent 4,656,186 (04/1987) USA; C07D 487/00 (20060101); C07D 487/22 (20060101); A61K 043/30; C07D 487/22) / J.C. Bommer, B.F. Burnham; Applicant: Nippon Petrochemicals Co. Ltd. – IAP №06/728,785; filed on 30.04.1985; published on 07.04.1987 // United States Patent and Trademark Office [electronic resource] – Mode of access: <http://patft.uspto.gov/netahtml/PTO/srchnum.htm> – date of access: 02.07.2010.
73. Tetrapyrrole therapeutic agents. Patent 4,675,338 (06/1987) USA; A61K 41/00 (20060101); C07D 207/44 (20060101); C07D 207/00 (20060101); C07K 5/00 (20060101); C07K 5/072 (20060101); A61K 49/00 (20060101); C07K 5/113 (20060101); C07K 5/093 (20060101); C07D 487/00 (20060101); C07D 487/22 (20060101); C07K 14/795 (20060101); A61K 38/00 (20060101); A61K 031/40; C07D 487/22 / J.C. Bommer, B.F. Burnham; Applicant: Nippon Petrochemicals Co. Ltd. – IAP №06/728,785; filed on 30.04.1985; published on 07.04.1987 // United States Patent and Trademark Office [electronic resource] – Mode of access: <http://patft.uspto.gov/netahtml/PTO/srchnum.htm> – date of access: 02.07.2010.
74. The structures of mono-L-aspartyl chlorin e6 and its related compounds / S. Gomi [et.al.] // *Heterocycles.* – 1998. – Vol. 48. – P. 2231–2243.
75. Boyle, R.W. Structure and biodistribution relationships of photodynamic sensitizers / R.W. Boyle, D.J. Dolphin // *J. Photochem. Photobiol.* – 1996. – Vol. 64. – P. 469–485.
76. Talaporfin: LS 11, LS11, ME 2906, Mono-L-Aspartyl Chlorin e6, NP e6, NPE 6, Taporfin Sodium. - *Drugs in R&D.* – 2003. – Vol. 4 (1). – P. 69–71.
77. Hydroporphyrins of the meso-tetra(hydroxyphenyl)porphyrin series as tumour photosensitizers / R. Bonnet [et.al.] // *J. Biochem.* – 1989. – Vol. 261. – P. 277–280.
78. Jones, H.J. Photodynamic therapy effect of m-THPC (Foscan) in vivo: correlation with pharmacokinetics / H.J. Jones, D.J. Veron, S.B. Brown // *Cancer Res. UK.* – 2003. – Vol. 89. – P. 398–404.
79. Photodynamic therapy for early squamous cell carcinomas of the esophagus, bronchi, and mouth with m-tetra (hydroxyphenyl) chlorin / J.F. Savary [et.al.] // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 1997. – Vol. 123. – P. 162–168
80. Фотосенсибилизатор и способ его получения. Патент №2276976 РФ МПК7 А61К31/409 (2006.01) А61К47/26 (2006.01) А61К47/30 (2006.01) А61Р35/00 (2006.01) / Г.В. Пономарев, Л.Д. Тавровский, А.М. Зарецкий, В.В. Ашмаров, Р.Ф. Баум; заявитель: Группа компаний «Гранд» - №2004124218/15; заявл. 10.08.2004; опубли. 10.02.2006 // Реестр изобретений Российской Федерации [электронный ресурс] – режим доступа: www.fips.ru/wps/portal/ - дата доступа 02.07.2010.
81. Цыб, А.Ф. Возможности и перспективы фотодинамической терапии (экспериментальные и клинические исследования) / А.Ф. Цыб, М.А. Каплан // *Российские медицинские вести.* – 2002. – №2. – С. 19–24.
82. Евтушенко, В. А. ФДТ с фотодитазинном больных базальноклеточным раком кожи и тяжелыми сопутствующими заболеваниями / В.А. Евтушенко // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2007. – Т.6, №1. – С.15.
83. Изучение накопления фотосенсибилизатора фотодитазин в опухолях мочевого пузыря / Н.Н. Булгакова [и др.] // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2007. – Т. 6, №1. – С. 12.
84. Отдельнова, О.Б. Возможность фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизатора фотодитазин в лечении гинекологических заболеваний / О.Б. Отдельнова, А.З. Хашукоева, М.И. Ибрагимова // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2008. – Т. 7, № 4. – С. 47–52.
85. Фотосенсибилизатор и способ его получения. Патент №2183956 РФ МПК7

- А61К31/409, А61Р35/00 / А.В. Решетников, И.Д. Залевский, Ю.В. Кемов, А.В. Иванов, А.В. Карменян, А.Т. Градюшко, В.П. Лаптев, Н.П. Неугодова, О.Ю. Абакумова, В.А. Привалов, А.В. Лаппа, В.А. Романов; заявитель: Общество с ограниченной ответственностью «Рада-Фарма» - №2001108397/14; заявл. 30.03.2001; опублик. 27.06.2002 // Реестр изобретений Российской Федерации [электронный ресурс] - режим доступа: www.fips.ru/wps/portal/ - дата доступа 02.07.2010.
86. Решетников, А.В. Основные результаты доклинического изучения нового фотосенсибилизатора радахлорин / А.В. Решетников, Ю.В. Кемов, И.Д. Залевский // Новые технологии и фундаментальные исследования в медицине: материалы 3-й Российской межрегиональной конференции, посвященной 60-летию юбилею Челябинской государственной медицинской академии / Челябинск, 2002. - С. 105
87. Privalov, A. Five Years' Experience of Photodynamic Therapy with New Chlorin Photosensitizer / A. Privalov, A.V. Lappa, E.V. Kochneva // Proceedings of SPIE. - 2005. - Vol. 5863. - P. 186-198.
88. Хлорин е6 - первый отечественный фотосенсибилизатор для фотодинамической терапии злокачественных опухолей / Э.А. Жаврид [и др.] // Материалы юбилейной конференции, посвященной 40-летию НИИ ОМР, Минск, 20-22 июня 2000 г./ НИИ ОМР; под ред. проф. И.В. Залуцкого. - Минск, 2000. - С. 138-148.
89. Хлорин е6 при фотодинамической терапии злокачественных опухолей / Э.А. Жаврид [и др.] // Новые лекарственные средства: синтез, технология, фармакология, клиника: материалы Междунар. научн. конф., Минск, 14-16 ноября 2001. - Минск, 2001. - С. 48-49.
90. Экспериментально-клиническое исследование оригинального отечественного фотосенсибилизатора хлорина е6 при фотодинамической терапии злокачественных опухолей / Э.А. Жаврид [и др.] // Теория и практика медицины: сб. научн. тр. вып. 2; под ред. И.Б. Зеленкевича и Г.Г. Шанько; Минск, Белорусский центр медицинской информации МЗ РБ, 2000 - С. 44-48.
91. Photodynamic therapy with chlorin e6 for skin metastases of melanoma / S.V. Sheleg [et al.] // J. Photodermatol. Photoimmunol. Photomed. - 2004. - Vol. 20, № 1. - P. 21-26.
92. Preparation of chlorin e. Patent A 2,274,101 (02/1942) USA C07D 487/00 (20060101); C07D 487/22 (20060101) / E.G. Snyder; Applicant: Jovan Laboratories Inc. - IAP № 258,175; filed on 24.02.1939; published on 24.02.1942 // United States Patent and Trademark Office [electronic resource] - Mode of access: <http://patft.uspto.gov/netahtml/PTO/srchnum.htm> - date of access: 02.07.2010
93. Photolon - an agent for photodynamic diagnosis and therapy: nonclinical and clinical experience. / P.T. Petrov [et.al.] // Acta Bio-Optica et Informatica Medica. - 2004. - Vol. 10. - P. 6-7.
94. HPLC study of chlorin e6 and its molecular complex with polyvinylpyrrolidone / H.A. Isakau [et.al.] // J. Biomed. Chromatogr. - 2007. - Vol. 21 (3). - P. 318-325.
95. Isakau, H.A. Isolation and identification of impurities in chlorin e6 / H.A. Isakau, T.V. Trukhacheva, P.T. Petrov // J.Pharm. Biomed. Analys. - 2007. - Vol. 45. - P. 20-29.
96. Toward understanding the high PDT efficacy of chlorin e6 -polyvinylpyrrolidone formulations: Photophysical and molecular aspects of photosensitizer-polymer interaction in vitro / H.A. Isakau [et.al.] // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. - 2008. - Vol. 92. - P. 165-174.
97. Spectral-luminescent studies of the "Photolon" photosensitizer in model media and in blood of oncological patients /M.V. Parkhots [et.al.] // J. Appl. Spectrosc. - 2003. - Vol. 70. - P. 921-926.
98. Spectral and photochemical characteristics of the photosensitizers chlorin e6 and Photolon in the presence of melanin / M.V. Parkhots [et.al.] // Optics and Spectroscopy. - 2005. - Vol. 98, № 3. - P. 374-382.
99. Chlorin e6-polyvinylpyrrolidone as a fluorescent marker for fluorescence diagnosis of human bladder cancer implanted on the chick chorioallantoic membrane model / W.L.L. Chin [et.al.] // Cancer Lett. - 2007. - Vol. 245. - P. 127-133.
100. The potential application of chlorin e6-polyvinylpyrrolidone formulation in

- photodynamic therapy /W.W. Chin [et.al.] // J. Photochem. Photobiol. Sci. – 2006. – № 5. –P. 1031–1037.
101. Fluorescence imaging and phototoxicity effects of new formulation of chlorin e6–polyvinylpyrrolidone / W.W. Chin [et.al.] // J. Photochem. Photobiol. – 2006. – Vol. 84. – P. 103–110.
102. Silica sol-gel matrix doped with Photolon molecules for sensing and medical therapy purpose / H. Podbielska [et.al.] // Biomolecular Engineering. – 2007. – Vol. 24. – P. 425–433.
103. Photolon™, a chlorin e6 derivative, triggers ROS production and light-dependent cell death via necrosis / L. Copley [et.al.] // Internat. J. Biochem. Cell. Biol. – 2008. – Vol. 40. – P. 227–235.
104. The susceptibility of anaerobic bacteria isolated from periodontal diseases to photodynamic inactivation with Fotolon (chlorin e6) / Z. Drulis-Kawa [et.al.] // Pol. J. Microbiol. – 2005. – Vol.54 (4). – P. 305-310.
105. Photodynamic diagnosis of a human nasopharyngeal carcinoma xenograft model using the novel chlorin e6 photosensitizer Fotolon / B. Ramaswamy [et.al.] // Int. J. Oncol. – 2005. – Vol. 6. – P.1501-1506.
106. The use of PVP as a polymeric carrier to improve the plasma half-life of drugs / Y. Kanaeda [et.al.] // Biomaterials. – 2004. – Vol. 25. – P. 3259–3266.
107. Liposome, new systems and new trends in their application. / F. Puisieux [et.al.] // Editions de Sante, 1995. – P.797.
108. Immediate and long-term efficacy and safety of photodynamic therapy with Photolon® (Fotolon®) - a seven-year clinical experience /Y.P. Istomin [et.al.] // Photodynamic Therapy: Back to the Future; editor D.H. Kessel // Proceedings of SPIE. – 2009. – Vol. 7380 –73806V-2.
109. Photodynamic therapy in combined treatment modalities of disseminated melanoma / M.A. Kaplan [et.al.] // J. Photodiagn. and Photodyn. Ther. – 2008. - Vol. 5 (suppl. 1). - P. S9.
110. Photodynamic therapy with chlorine photosensitizers on the central lung cancer / Y.A. Ragulin [et.al.] // J. Thoracic Oncology. – 2007. – Vol. 2 (8). – P. S622-S623.
111. Photodynamic therapy of women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia using Photolon® / T.P. Laptsevich [et.al.] // J. Photodiagn. Photodyn. Ther. – 2008. – Vol. 5 (suppl. 1). – P. S6.
112. Photodynamic therapy of choroidal neovascularization in age related macular degeneration with Photolon /L.N. Marchanka [et.al.] // Abstracts of the 10th World congress of the International photodynamic association, Munich, 2005. – P. 127.
113. Photodynamic therapy of high-grade gliomas with Photolon® (Fotolon®). Results of the open-label randomized clinical trial / A.S. Fedulov [et.al.] // J. Photodiagn. Photodyn. Ther. – 2008. – Vol. 5 (suppl. 1). – P.7 (19).
114. Jeromin, L. Photodynamic therapy of bladder tumors with new photosensitizer Photolon: pilot study / L. Jeromin, C. Peszynski-Drews, Lipinski M. // Acta Biooptic Inform. Med. – 2004. – Vol. 10. – P. 10-14.

Адрес для корреспонденции:

220007, Республика Беларусь,
г. Минск, ул. Фабрициуса, 30,
РУП «Белмедпрепараты»
тел./факс 8 (017) 220-39-40; 220-31-42,
e-mail: pharmtox@belmedpreparaty.com

Шляхтин С. В.

Поступила 16.06.2010 г.