

ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА НА ОСНОВЕ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ТЕТРА-3-ФЕНИЛТИОФТАЛОЦИАНИНА ГИДРОКСИАЛЮМИНИЯ У МЫШЕЙ

А.П. Будько¹, З.Г. Дейчман¹, Г.А. Меерович^{2,3}, Л.М. Борисова¹, И.Г. Меерович⁴,
 А.В. Ланцова¹, Н.Ю. Кульбачевская¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

²Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук, Москва, Россия

³Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва, Россия

⁴Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр

«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия

Резюме

Настоящая работа посвящена исследованию фармакокинетики фотосенсибилизатора инфракрасного диапазона на основе тетра-3-фенилтиофталоцианина гидроксиалюминия в стабилизированной липосомальной лекарственной форме. Исследования проводили на половозрелых мышцах-самках. Фотосенсибилизатор вводили мышам однократно внутривенно в дозе 6 мг/кг. Оценку динамики накопления фотосенсибилизатора в тканях и органах мышей проводили в интервалах времени от 5 мин до 7 сут с использованием спектрально-флуоресцентного метода. Максимальное накопление фотоактивной формы фотосенсибилизатора было зарегистрировано в легких (32 мкг/г в интервале 5–30 мин после введения), печени (20,8 мкг/г в интервале 4–24 ч после введения) и селезенке (28 мкг/г через 4 ч после введения). При этом в печени и селезенке к концу срока наблюдения (7 сут после введения) продолжали определяться следовые количества фотоактивной формы фотосенсибилизатора – расчетная концентрация составляла 0,5–1 мкг/г. Хуже всего фотосенсибилизатор накапливался в мышцах и коже. При этом в коже флуоресценция фотосенсибилизатора определялась практически сразу, и концентрация его оставалась на одном уровне (1,2–1,5 мкг/г) до 3 сут наблюдения. В мышцах концентрация фотосенсибилизатора достигала значения 1,5 мкг/г через 15 мин после введения, после чего постепенно снижалась и к 24 ч составила 0,25 мкг/г. Через 7 сут после введения, значения концентрации фотосенсибилизатора в коже и мышцах находились ниже предела детектирования. Исследования подтвердили, что ПЭГилирование липосомальной лекарственной формы фотосенсибилизатора замедляет процесс его захвата ретикуло-эндотелиальной системой. Показано, что фотосенсибилизатор длительно циркулирует в крови и органах мышей, распределение заканчивается только к 4 ч после введения.

Ключевые слова: фотосенсибилизатор, фармакокинетика, флуоресценция.

Для цитирования: Будько А.П., Дейчман З.Г., Меерович Г.А., Борисова Л.М., Меерович И.Г., Ланцова А.В., Кульбачевская Н.Ю. Изучение фармакокинетики фотосенсибилизатора на основе липосомальной формы тетра-3-фенилтиофталоцианина гидроксиалюминия у мышей // Biomedical photonics. – 2018. – Т. 7, № 4. – С. 16–22. doi: 10.24931/2413–9432–2018–7–4–16–22.

Контакты: Будько А.П., e-mail: apbudko@mail.ru

STUDY OF PHARMACOKINETICS OF LIPOSOMAL PHOTSENSITISER BASED ON HYDROXYALUMINIUM TETRA-3-PHENYLTHIOPHTHALOCYANINE ON MICE

Budko A.P.¹, Deichman Z.G.¹, Meerovich G.A.^{2,3}, Borisova L.M.¹, Meerovich I.G.⁴,
 Lantsova A.V.¹, Kulbachevskaya N.Yu.¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

²Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

³National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute), Moscow, Russia

⁴Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Abstract

The present work is devoted to the study of pharmacokinetics of infrared photosensitizer (PS) based on hydroxylaluminium tetra-3-phenylthiophthalocyanine in a sterically stabilized liposomal form. The study was carried out on adult female mice. The PS was administered once intravenously at a dose of 6 mg / kg. Evaluation of the PS accumulation dynamics in the mice tissues and organs was performed at time intervals from 5 minutes to 7 days using spectral-fluorescent method. The maximum accumulation of the PS photoactive form was recorded in lungs (32 µg / g in the interval of 5–30 minutes after introduction), liver (20.8 µg / g in the interval of 4–24 hours after introduction) and spleen (28 µg / g 4 hours after introduction). At the same time, by the end of the observation period (7 days after administration), trace amounts of the PS photoactive form were still detected in the liver and the spleen at a calculated concentration of 0.5-1 µg / g. The PS accumulated the least in muscles and skin. The fluorescent signal from the PS accumulated in skin was detectable almost immediately, and its concentration remained at the same level (1.2-1.5 µg / g) for up to 3 days of observation. In the muscles, the concentration of the PS reached 1.5 µg / g 15 minutes after administration, and then gradually decreased until 0.25 µg / g at 24 hours.

Data on the pharmacokinetics of PS in blood, basic organs and tissues of animals were obtained, pharmacokinetic parameters were calculated. 7 days after the administration, the PS concentration in the skin and muscles was below the detection limit. The studies confirmed that PEGylation of the PS liposomal form slows down the process of its capture by reticulo-endothelial system. It was shown that the PS circulates in blood and organs of mice for a long time and it completely distributes only when 4 hours pass after administration.

Keywords: photosensitizer, pharmacokinetics, fluorescence.

For citations: Budko A.P., Deichman Z.G., Meerovich G.A., Borisova L.M., Meerovich I.G., Lantsova A.V., Kulbachevskaya N.Yu. Study of pharmacokinetics of liposomal photosensitizer based on hydroxylaluminium tetra-3-phenylthiophthalocyanine on mice, *Biomedical photonics*, 2018, vol. 7, no. 4, pp. 16–22. (in Russ.) doi: 10.24931/2413–9432–2018–7–4–16–22.

Contacts: Budko A.P., e-mail: apbudko@mail.ru

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) широко используется для лечения злокачественных новообразований, особенно, в случаях их поверхностного и внутриполостного расположения. Для эффективного воздействия на глубокие слои опухолей большого размера применяют фотосенсибилизаторы (ФС) ближнего инфракрасного (ИК) диапазона [1]. Использование липосомальных лекарственных форм (ЛЛФ) позволяет применять в ФДТ новые эффективные гидрофобные и гидрофильные субстанции, повысить селективность накопления ФС в опухоли по сравнению с окружающими тканями и эффективность методики в целом [1,2].

Для проведения доклинических исследований разрабатываемой лекарственной формы, в том числе на основе ФС, необходимо изучение фармакокинетики [1–3]. Данное исследование заключается в определении концентрации активной субстанции в различных органах, тканях и биологических жидкостях организма в определенные моменты времени после введения и дает информацию о продолжительности циркуляции ФС в организме, органах-мишенях, что позволяет связать концентрацию и вводимую дозу ФС с фармакологическим эффектом [4].

Одним из важнейших требований для проведения фармакокинетических исследований является широкий динамический диапазон метода и средств измерения, который должен составлять не менее трех порядков.

Для определения концентрации лекарств в биологических средах используются хроматографические, спектрофотометрические, пламенно-эмиссионные

[5] атомно-абсорбционные [6], оптико-спектральные и спектрально-флуоресцентные [7–11] и ряд других методов. Однако при изучении фармакокинетики ФС многие общепринятые методы количественного определения вещества сталкиваются со сложно решаемыми проблемами. Так, при выполнении хроматографии и спектрофотометрии необходимо как можно полнее экстрагировать изучаемую субстанцию из органов и тканей, в том числе из кожи (именно накопление ФС в коже приводит к отрицательным побочным явлениям), что достаточно затруднительно, особенно в случае количественного определения тетрапирролов, к которым относится большинство ФС. Задача еще более усложняется при использовании наноструктурированных ФС на основе гидрофобных субстанций (к которым относится и изучаемый ФС), поскольку в разные моменты времени после введения часть молекул активной субстанции остается в наноносителях, другая часть уже переходит в клеточные структуры.

Пламенно-эмиссионные и атомно-абсорбционные методы элементного анализа [5,6], которые могут быть использованы для анализа без экстракции исследуемых лекарственных субстанций из тканей, имеют ограниченный динамический диапазон, особенно для субстанций, которые состоят из тех же химических элементов, что и ткани организма (H,N,C,O) и не содержат малораспространенных элементов, например, атомов металлов. Атомно-абсорбционный метод был использован Р.Н. Brun и соавт. для изучения фармакокинетики фотосенсибилизатора Tookad в крови и основных внутренних органах, динамика

его содержания в органах и тканях оценивалась по интенсивности линии входящего в состав Tookad палладия [6].

В настоящее время для определения в биологических образцах концентрации активных субстанций, в частности ФС, обладающих характеристическими полосами поглощения и флуоресценции, используются оптико-спектральные и спектрально-флуоресцентные методы [7–11]. Применение аппаратуры с высоким спектральным разрешением позволяет обеспечить высокую чувствительность таких методов [10].

Целью настоящего исследования являлось изучение фармакокинетики ФС на основе тетра-3-фенилтиофталоцианина гидроксиалюминия ($3-(\text{PhS})_4\text{-PcAlOH}$) в ЛЛФ при его внутривенном введении мышам в дозе 6 мг/кг.

Материалы и методы

Были проведены исследования фармакокинетики ФС на основе разработанной в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ ЛЛФ гидрофобной фотоактивной субстанции тетра-3-фенилтиофталоцианина гидроксиалюминия (сокр. $3-(\text{PhS})_4\text{-PcAlOH}$) (рис. 1), созданной во ФГУП «ГНЦ «НИОПИК». Спектральный максимум поглощения $3-(\text{PhS})_4\text{-PcAlOH}$ соответствует длине волны 717 нм. Стабилизированные липосомы ЛЛФ включали в себя $3-(\text{PhS})_4\text{-PcAlOH}$, липиды лецитина (USP30-NF25, C.1145, Lipoid GmbH, Германия) и холестерина (USP30-NF25, C.1101, Avanti Polar Lipids, Inc., США), сахарозу (ФС.2.1.0034.15 ГОСТ 5833–75, ХИММЕД, Россия) в качестве криопротектора, PEG-2000-DSPE ((1,2-дистеароил-*sn*-глицеро-3-фосфоэтаноламин-

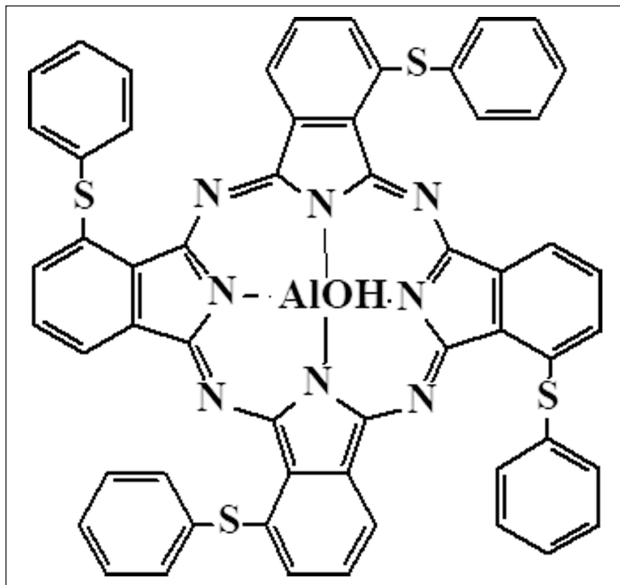


Рис. 1. Химическая формула тетра-3-фенилтиофталоцианина гидроксиалюминия
Fig. 1. Chemical formula of hydroxyaluminum tetra-3-phenylthiophthalocyanine

N-[метокси-(полиэтилен-гликоль)-2000]аммониевая соль), Avanti Polar Lipids, Inc., США) для уменьшения захвата липосом ретикулоэндотелиальной системой и увеличения длительности их циркуляции в крови [12–16].

Исследования проведены на 50 половозрелых мышак-самках гибридах (C57Bl/6, × DBA/2) F1, массой 20–22 г, из разведения ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Животные были случайным образом сгруппированы в 10 групп по 5 голов. Все животные были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья. Животных содержали при температуре воздуха 20–23°C и относительной влажности 60–65% в условиях естественного освещения и принудительной вентиляции на подстилке из древесных стружек, стерилизованных в сухожаровом шкафу. Для кормления животных использовали стандартный промышленный сертифицированный брикетированный корм для грызунов с установленным сроком годности. Кормление проводили в одно, и то же время. Животные имели свободный доступ к корму и воде.

Все эксперименты проводили в соответствии с рекомендациями Good Clinical Practice [17].

Лиофилизат ЛЛФ $3-(\text{PhS})_4\text{-PcAlOH}$ редиспергировали водой для инъекций в объеме 5,8 мл на флакон, при этом содержание $3-(\text{PhS})_4\text{-PcAlOH}$ в дисперсии составляло 0,25 мг/мл. Объем вводимой дисперсии рассчитывали на основании данных о массе тела животных, дисперсию вводили однократно струйно в хвостовую вену в дозе 6 мг/кг.

В работе использовали механический гомогенизатор (GlasCol, США), вортекс Heildolph Reax Top (Heidolph, Германия), пипетки Microman 1000 с принудительным вытеснением (Gilson, Франция), 24-луночные планшеты с 16-миллиметровыми лунками 3424 Mark II для культуры тканей (Costar, США), дистиллированную воду.

Исследование флуоресценции проводили с использованием модифицированного лазерного электронного спектроанализатора ЛЭСА-01-«Биоспек» (ООО «БИОСПЕК», Россия). Динамический диапазон регистрируемых спектроанализатором флуоресцентных сигналов был расширен до 3,5 порядков, благодаря дополнительно разработанному алгоритму автоматического управления временем накопления фотоприемника. Линейность отклика спектроанализатора была установлена на образцах липосомальных дисперсий $3-(\text{PhS})_4\text{-PcAlOH}$ в дистиллированной воде с концентрациями 0,01 мг/мл; 0,05 мг/мл; 0,1 мг/мл; 0,5 мг/мл; 2 мг/мл; 10 мг/мл; 25 мг/мл; 50 мг/мл и 0 (вода в качестве контрольного образца).

Статистический анализ проводили с использованием штатных возможностей программы Excel 2003 для Windows.

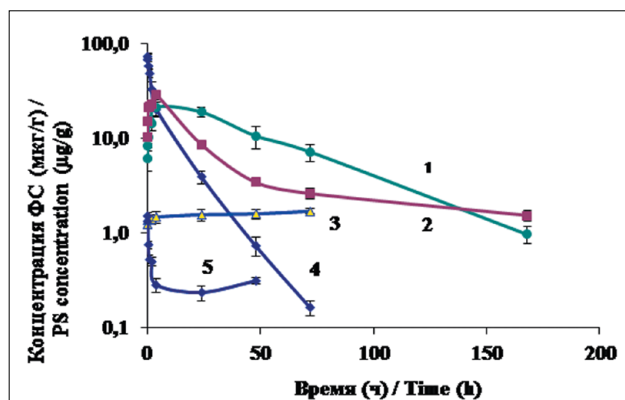


Рис. 2. Зависимость концентрации 3-(PhS)₄-PcAlOH от времени после его внутривенного введения в дозе 6 мг/кг в разных органах и тканях мышей: 1 – печень; 2 – селезенка; 3 – кожа; 4 – кровь; 5 – мышцы
Fig. 2. The dependence of 3-(PhS)₄-PcAlOH concentration on time after its intravenous administration at a dose of 6 mg/kg in different organs and tissues of mice: 1 – liver; 2 – spleen; 3 – skin; 4 – blood; 5 – muscle

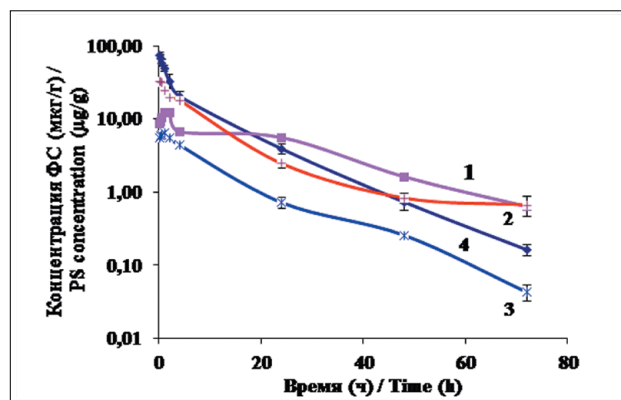


Рис. 3. Зависимость концентрации 3-(PhS)₄-PcAlOH от времени после его внутривенного введения в дозе 6 мг/кг в разных органах и тканях мышей: 1 – почки; 2 – легкие; 3 – сердце; 4 – кровь
Fig. 3. The dependence of 3-(PhS)₄-PcAlOH concentration on time after its intravenous administration at a dose of 6 mg/kg in different organs and tissues of mice: 1 – kidneys; 2 – lungs; 3 – heart; 4 – blood

Для изучения фармакокинетики проводили прободготовку следующим образом. Животных умерщвляли методом декапитации через 5 мин, 15 мин, 30 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 24 ч, 48 ч, 72 ч и 168 ч после введения ФС, после чего получали кровь отбором из яремной вены и добавляли гепарин в качестве антикоагулянта. Образцы тканей и внутренних органов мышей (печень, почки, легкие, селезенка, сердце, мышца и кожа) получали хирургически. Печень, почки, мышцы отделяли, измельчали глазными ножницами в чашке Петри на льду и готовили навески массой 300±1 мг, к которым прибавляли 1,5 мл дистиллированной воды и гомогенизировали в стекле на механическом гомогенизаторе. Для селезенки, легких, сердца и кожи (образцы кожи отделяли от подкожной клетчатки выскабливанием) навеска составляла 100±1 мг, количество добавляемой воды пропорционально уменьшалось. Отбирали пипеткой количество гомогената эквивалентное 100 мг ткани и переносили в лунки планшетов для последующего измерения флуоресценции. К 100 мкл крови также пропорционально добавляли воду.

Флуоресценцию 3-(PhS)₄-PcAlOH в гомогенатах образцов возбуждали лазерным излучением с длиной волны 633 нм и регистрировали в спектральном диапазоне 720–770 нм, а его концентрацию определяли по интегральной интенсивности флуоресценции, нормированной на интенсивность сигнала возбуждающего лазерного излучения. Для пересчета значений интенсивности флуоресценции в значения концентрации ФС в ткани были построены калибровочные кривые путем добавления известного количества ФС к биологическим образцам. Опытные и калибровочные образцы обрабатывали одинаково.

При калибровке было установлено, что зависимость нормированной интегральной интенсивности

флуоресценции от концентрации 3-(PhS)₄-PcAlOH в образцах в широких пределах (для крови – в пределах 0,1–129 мкг/мл) линейно зависит от концентрации, и с точностью до 6% для всех органов может быть описана функцией

$$I = k \times C,$$

где $k = 27,99 \text{ (мкг/г)}^{-1}$ для зафиксированных в исследовании условий измерений, I – нормированная интегральная интенсивность флуоресценции, C – концентрация.

Полученное по результатам калибровки соотношение использовали для количественной оценки концентрации 3-(PhS)₄-PcAlOH в исследуемых органах и тканях.

Результаты и обсуждение

Зависимости концентрации 3-(PhS)₄-PcAlOH в крови и основных органах и тканях (печени, селезенке, почках, мышце, коже, сердце, легких) от длительности временного интервала между введением ФС и измерением флуоресценции в органах и тканях приведены на рис. 2, 3.

Значения концентраций ФС, представленные на рисунках, являются средним арифметическим из полученных данных и сопровождаются доверительным интервалом ($p=95\%$ при $n=5$).

В крови через 5 мин после введения концентрация составляет 73,4 мкг/л, к 24 ч снижается до 3,9 мкг/л.

В легких максимальная концентрация 32 мкг/г достигается к 5 мин наблюдения, не изменяется 30 мин, а затем медленно снижается: концентрация падает до значения 2,45 мкг/г за 24 ч. При этом в легких, сердце и почках нет фазы роста концентрации 3-(PhS)₄-PcAlOH в начале наблюдения.

Таблица 1
Фармакокинетические параметры**Table 1**
Pharmacokinetic parameters

Орган, ткань Organ, tissue	Параметры Parameters						
	C_0 , мкг/мл $\mu\text{g/ml}$	V_1 , мл ml	V_b , мл ml	AUC мкг×ч/мл $\mu\text{g}\times\text{h/ml}$	Cl_{tot} , мл/ч ml/h	$T_{0,5a}$, час h	$T_{0,5b}$, час h
Кровь Blood	76,9	1,73	4,32	411,43	0,32	0,96	9,76

В печени концентрация 3-(PhS)₄-PcAlOH нарастает от значения 6,2 мкг/г через 5 мин наблюдения до 20,8 мкг/г через 4 ч, остается на этом уровне до 24 ч и затем медленно снижается до 0,5 мкг/г за 168 ч.

В селезенке концентрация увеличивается от значения 8,2 мкг/г к 5 мин наблюдения до 28 мкг/г через 4 ч, после чего быстро снижается до 8,5 мкг/г к 24 ч, но наблюдается до 168 ч.

В мышцах концентрация 3-(PhS)₄-PcAlOH максимальна к 15 мин после введения и составляет 1,5 мкг/г, после чего снижается к 24 ч до 0,25 мкг/г.

В почках максимальная концентрация 12,5 мкг/г достигается к 2 ч наблюдения, затем к 4 ч снижается в 2 раза до 6,64 мкг/г, а к 72 ч – до 0,65 мкг/г.

В коже (гомогенизированной, без подкожной клетчатки) значения концентрации 3-(PhS)₄-PcAlOH плавно увеличиваются от 1,2 мкг/г через 4 ч до 1,7 мкг/г через 72 ч после введения.

К 168 ч наблюдения значения концентрации 3-(PhS)₄-PcAlOH в коже, почках, легких, сердце, и мышцах находятся ниже предела детектирования.

Полученные результаты позволили рассчитать в соответствии с [18] для зависимости «концентрация ФС – время» в крови мышей после внутривенного введения 3-(PhS)₄-PcAlOH в дозе 6 мг/кг следующие фармакокинетические параметры: C_0 – расчетная концентрация в крови в момент времени наблюдения 0 ч; V_1 – «кажущийся» расчетный объем распределения дозы препарата в момент времени наблюдения 0 ч;

V_b – кинетический объем распределения;

AUC – площадь под кривой зависимости «концентрация- время»;

Cl_{tot} – клиренс общий – объем крови, освобождающийся от препарата в единицу времени;

$T_{0,5a}$ – время «полураспределения» препарата, быстрая фаза падения концентрации;

$T_{0,5b}$ – время «полувыведения» препарата, медленная фаза падения концентрации.

Из полученных данных следует, что зависимость «концентрация-время» для крови описывается уравнением двухкомпонентной модели. Фаза «рас-

пределения» с быстрым снижением концентрации 3-(PhS)₄-PcAlOH в крови характеризуется высоким значением $T_{0,5a}=0,96$ ч. Анализ полученных данных (в первую очередь – высокое значение $T_{0,5a}$) указывает на длительную циркуляцию ЛЛФ 3-(PhS)₄-PcAlOH в крови, распределение заканчивается к 4 ч после его введения. Высокие значения концентрации 3-(PhS)₄-PcAlOH в органах ретикулоэндотелиальной системы (печени, селезенке) достигаются только после 4 ч после введения. Эти данные согласуются с выводами [14–16] о том, что ПЭГилирование способствует уменьшению захвата липосом органами ретикулоэндотелиальной системы, а экстравазация липосом через дефекты эндотелиального слоя неоваскуляризации благодаря длительной

Таблица 2

Площадь под кривой зависимости концентрация-время AUC для тканей мышей, соотношение площадей AUC_{ткань}/AUC_{кровь}

Table 2
Area under curve AUC for tissue, area ratio AUC_{tissue}/AUC_{blood}

Орган, ткань Organ, tissue	AUC мкг×ч/мл AUC $\mu\text{g}\times\text{h/ml}$	AUC _{ткань} /AUC _{кровь} AUC _{tissue} /AUC _{blood}
Печень Liver	959,7	2,3
Почки Kidneys	275,4	0,7
Легкие Lungs	342,8	0,8
Селезенка Spleen	669,4	1,6
Мышцы Muscles	22,1	0,1
Сердце Heart	87,7	0,2
Кожа Skin	111	0,3

циркуляции приводит к повышению уровня и селективности накопления ФС в опухоли. Это коррелирует с результатами, полученными при исследовании уровня и селективности накопления изучаемого ФС на опухолевых моделях [11], где наибольшие значения уровня и селективности накопления были отмечены через 4–7 ч после его введения (в зависимости от выбранной модели опухоли), и этот интервал времени был признан целесообразным для начала облучения при ФДТ.

Фаза «выведения» с медленным снижением концентрации ФС в крови продолжается до 72 ч после введения: $T_{0,5b} = 9,76$ ч.

Исходя из значения «кажущегося» объема распределения V_1 в начальный момент времени ЛЛФ, ФС распределяется только в крови. Значение кинетического объема распределения V_b составляет около 21% объема тела животного.

Наиболее высокие показатели площади под кривой АУС были получены в печени и селезенке (в 2,3 и 1,6 раза, соответственно, выше, чем в крови); в почках отношение $AUC_{ткань}/AUC_{кровь}$ составляло 0,7. Органами накопления ФС являются селезенка, печень и легкие. Почки и, возможно, печень являются органами выведения ФС.

Заключение

Отработан метод подготовки биологических проб для количественного определения концентрации ФС.

Проведены исследования фармакокинетики фотосенсибилизатора на основе тетра-3-фенилтиофталоцианина гидроксиалюминия в липосомальной лекарственной форме.

Высокие (более 20 мкг/г) значения концентрации наблюдаются в печени, селезенке, и в первый час наблюдения в легких. К 24 ч наблюдения значения концентрации ФС достаточно велики во всех органах. В печени и селезенке следы ФС детектируются через 168 ч.

Подтверждено, что ПЭГилирование липосомальной лекарственной формы ФС замедляет процесс его захвата ретикулоэндотелиальной системой. ФС длительно циркулирует в крови и органах мышей, распределение заканчивается только к 4 ч после введения.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 17–07–01568).

ЛИТЕРАТУРА

1. Meerovich I.G., Sanarova E.V., Meerovich G.A. et al. Near-infrared photosensitizers based on nanostructured forms of phthalocyanine derivatives // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2015. – Vol. 85(1). – P.280–288. doi: 10.1134/S1070363215010430
2. Барышников А.Ю., Борисова Л.М., Ворожцов Г.Н. и др. Фотосенсибилизатор, липосомальная форма фотосенсибилизатора и способ проведения фотодинамической терапии // Патент РФ № 2257898. – 2005.
3. Sanarova E., Meerovich I., Lantsova A., et al. Thiosens liposomal dosage form technology development and photodynamic efficiency assessment // *J. Drug Delivery Science & Technology* – 2014. – Vol. 24(4). – P.315–319.
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая // под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К., 2012. – 944 с.
5. Гарифзянов А.Р. Эмиссионная фотометрия пламени и атомно-абсорбционная спектроскопия: электронное учебное пособие. – Казань: Казанский государственный университет, 2009. – 94 с.
6. Brun P.H., DeGroot J.L., Dickson E.F., et al. Determination of the in vivo pharmacokinetics of palladium-bacteriopheophorbide (WST09) in EMT6 tumour-bearing Balb/c mice using graphite furnace atomic absorption spectroscopy // *Photochem Photobiol Sci*. – 2004. – Vol. 3(11–12). – P. 1006–1010.
7. Каленков Г.С., Каленков С.Г., Штанько А.Е. Гиперспектральная голографическая фурье-микроскопия // *Квантовая электроника*. – 2015. – Т. 45(4). – С.333–338.
8. Стратонников А.А., Меерович Г.А., Рябова А.В. и др. Использование спектроскопии обратного диффузного отражения света для мониторинга состояния тканей при фотодинамической терапии // *Квантовая электроника*. – 2006. – Т. 36(12). – С. 1103–1110.

REFERENCES

1. Meerovich I.G., Sanarova E.V., Meerovich G.A., Volkov K.A., Negrinovsky V.M., Derkacheva V.M., Barkanova S.V., Lukyanets E.A., Oborotova N.A., Smirnova Z.S., Borisova L.M., Lantsova A.V., Polozkova A.P., Orlova O.L., Loschenov V.B., Umnova L.V., Baryshnikov A.Yu., Vorozhtsov G.N. Near-infrared photosensitizers based on nanostructured forms of phthalocyanine derivatives, *Russian Journal of General Chemistry*, 2015, vol. 85(1), pp. 280–288. doi: 10.1134/S1070363215010430
2. Baryshnikov A.Ju. Borisova L.M., Vorozhtsov G.N., Gerasimova G.K., Davydov M.I., Derkacheva V.M., Kokareva V.I., Kubasova I.Ju., Loshchenov V.B., Luzhkov Ju.M., Lukyanets E.A., Meerovich G.A., Meerovich I.G., Oborotova N.A., Polozkova A.P. Smirnova Z.S. Stratonnikov A.A. *Fotosensibilizator, liposomalnaya forma fotosensibilizatora i sposob provedeniya fotodinamicheskoi terapii* [Photosensitizing agent, liposomal formulation of photosensitizing agent and method for carrying out photodynamic therapy]. Patent RF no. 2257898, 2005.
3. Sanarova E., Meerovich I., Lantsova A., Kotova E., Shprakh Z., Polozkova A., Orlova O., Meerovich G., Borisova L., Lukyanets E., Smirnova Z., Oborotova N., Baryshnikov A. Thiosens liposomal dosage form technology development and photodynamic efficiency assessment, *J. Drug Delivery Science & Technology*, 2014, Vol. 24(4), pp.315–319.
4. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya* [A guide to preclinical drug research. Part 1], ed. A.N. Mironov. Moscow: Grif&K Publ., 2012. 944 p.
5. Garifzyanov A.R. *Emissionnaya fotometriya plameni i atomno-absorbtsionnaya spektroskopiya: elektronnoe uchebnoe posobie* [Emission photometry of flame and atomic absorption spectroscopy: an electronic textbook for 2nd year students]. Kazan', Kazan' state university Publ. 94 p.
6. Brun P.H., DeGroot J.L., Dickson E.F., Farahani M., Pottier R.H. Determination of the in vivo pharmacokinetics of palladium-bacte-

9. Лощенов В.Б., Линьков К.Г., Савельева Т.А. и др. Аппаратурное и инструментальное обеспечение флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. – 2013. – Т. 2, № 3. – С. 17–25.
10. Reshetnikov A.V., Ponomarev G.V., Ivanov A.V., et al. Novel drug form of chlorin e6 // Proc. SPIE – 2000. – Vol. 3909. – P. 124–129.
11. Меерович Г.А., Борисова Л.М., Будько А.П. и др. Исследование уровня и селективности накопления липосомальной формы фотосенсибилизатора тетра-3-фенилтиофталоцианина гидроксид алюминия на опухолевых моделях мышей при разных способах перевивки // Российский биотерапевтический журнал. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 74–79.
12. Abra R.M., Bankert R.B., Chen F., et al. The next generation of liposome delivery systems: recent experience with tumor-targeted, sterically-stabilized immunoliposomes and active-loading gradients // J Liposome Res. – 2002. – Vol. 12. – P. 1–3.
13. Brown I.M., Giaccia A.I. The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy // Cancer Res. – 1998. – Vol. 58(7) – P. 1408–1416.
14. Allen T.M. Liposomes. Opportunities in drug delivery // Drugs. – 1997. – Vol. 54(4). – P. 8–14.
15. Moghimi S.M., Hunter A.C., Murray J.C. Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice // Pharmacol. Rev. – 2003. – Vol. 53. – P. 283–318.
16. Klibanov A.L., Maruyama K., Torchilin V.P., Huang L. Amphipatic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes // FEBS Lett. – 1990. – Vol. 268. – P. 235–238.
17. Большаков О.П., Незнанов Н.Г., Бабаханян Р.В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных // Качественная клиническая практика. – 2002. – № 1. – С. 58–61.
18. Соловьев В.Н., Фирсов А.А., Филлов В.А. Фармакокинетика. – Москва: Медицина, 1980. – 223 с.
7. Kalenkov G.S., Kalenkov S.G., Shtan'ko A.E. Hyperspectral holographic Fourier-microscopy, *Kvantovaya elektronika*, vol. 45, no 4, pp. 333–338.
8. Stratonnikov A.A., Meerovich G.A., Ryabova A.V., Savelieva T.A., Loschenov V.B. Application of backward diffuse reflection spectroscopy for monitoring the state of tissues in photodynamic therapy, *Kvantovaya elektronika*, 2006, vol. 36(12), pp. 1103–1110. (in Russian)
9. Loschenov V.B., Lin'kov K.G., Savelieva T.A., Loschenov M.V., Model S.S., Borodkin A.V. Hardware and tool equipment for fluorescence diagnostics and photodynamic therapy, *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2013, vol. 2, no 3, pp. 17–25. (in Russian).
10. Reshetnikov A.V., Ponomarev G.V., Ivanov A.V., Abakumova O.Yu., Tsvetkova T.A., Karmenyan A.V., Rebeko A.G., Baum R.Ph. Novel drug form of chlorin e6, *Proc. SPIE*, 2000, vol. 3909, pp. 124–129.
11. Meerovich G.A., Borisova L.M., Bud'ko A.P., Kiseleva M.P., Nikolaeva L.L., Meerovich I.G., Lantsova A.V., Chernova S.V., Oborotova N.A. Study of the level and selectivity of accumulation of the liposomal form of the hydroxylaluminum tetra-3-phenylthiophthalocyanine photosensitizer on tumor models of mice with different methods of inoculation, *Rossiiskii bioterapevticheskii jurnal*, 2017, vol.16, no 4, pp. 74–79. (in Russian).
12. Abra R.M., Bankert R.B., Chen F., Egilmez N.K., Huang K., Saville R., Slater J.L., Sugano M., Yokota S.J. The next generation of liposome delivery systems: recent experience with tumor-targeted, sterically-stabilized immunoliposomes and active-loading gradients, *J. Liposome Res.*, 2002, vol. 12, pp. 1–3.
13. Brown I. M., Giaccia A. I. The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy, *Cancer Res.*, 1998, vol. 58(7), pp. 1408–1416.
14. Allen T.M. Liposomes. Opportunities in drug delivery, *Drugs*, 1997, vol. 54(4), pp. 8–14.
15. Moghimi S.M., Hunter A.C., Murray J.C. Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice, *Pharmacol. Rev.*, 2003, vol. 53, pp. 283–318.
16. Klibanov A.L., Maruyama K., Torchilin V.P., Huang L. Amphipatic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes, *FEBS Lett*, 1990, vol. 268, pp. 235–238.
17. Bol'shakov O.P., Neznanov N.G., Babakhanyan H.V. Didactic and Ethical Aspects of Research on Biomodels and Experimental Animals, *Kachestvennaia klinicheskaja praktika*, 2002, no 1, pp. 58–61. (in Russian).
18. Soloviov V.N., Firsov A.A., Filov V.A. *Farmacokinetica* [Pharmacokinetics]. Moscow, Medicine Publ., 1980. 223 p.