

УДК 57.085.1

**ФАРМАКОКИНЕТИКА И БИОДОСТУПНОСТЬ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА
ФОТОЛОН (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)****С.В. Шляхтин, Т.В. Трухачева, Г.А. Исаков, С.Л. Федорук, И.В. Семак****РУП «Белмедпрепараты», Минск, Республика Беларусь***Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь***Введение**

Фотодинамическая терапия (ФДТ), теоритически обоснованная R. Bonnet и M.C. Verenbaum в 1989 г., является новой перспективной медицинской технологией, основанной на способности фотосенсибилизаторов (ФС) селективно накапливаться в определенных клетках и тканях (злокачественные опухоли, микроорганизмы, клетки крови и т.д.) и при локальном лазерном облучении с длиной волны, совпадающей с максимумом поглощения ФС, генерировать образование активных форм кислорода, оказывающих на клетки-мишени цитотоксический эффект [1].

К числу перспективных ФС относятся хлорины, которые характеризуются высокой фотодинамической активностью и меньшим количеством побочных эффектов по сравнению с препаратами первого поколения. На основе хлорина еб специалистами РУП «Белмедпрепараты» (Республика Беларусь) разработан препарат Фотолон, который представляет собой молекулярный комплекс хлорина еб и поливинилпирролидона (ПВП) [2, 3]. Оценке физико-химических и фармакологических свойств ФС Фотолон посвящено большое количество работ отечественных и зарубежных авторов [3–14]. В частности, Isakau H.A. и соавт. показали, что взаимодействие хлорина еб с ПВП препятствует гидролизу соли хлорина еб, а также улучшает растворимость хлорина еб и его более гидрофобных сложных эфиров в водной среде. Более того, связанные с ПВП молекулы хлорина еб характеризуются более высокой фотодинамической активностью и флуоресценцией по сравнению с нативным хлорином еб [5–7].

Клиническая эффективность ФДТ с препаратом Фотолон показана в случаях опухолей кожи и слизистых оболочек [2, 17], диссеминированных форм меланомы [17, 18], центрального рака легкого [19], цервикальных интраэпителиальных неоплазий [17, 20], центральной инволюционной хориоретинальной неоваскуляризации [21]. Проводятся клинические исследования по применению метода ФДТ с препаратом Фотолон при лечении злокачественных опухолей головного мозга [22], рака мочевого пузыря [23].

В экспериментах на здоровых крысах и крысах с перевивными опухолями различных морфологических типов, нами было изучено распределение Фотолон по тканям внутренних органов, а также исследована способность препарата преодолевать интактный гематоэнцефалический барьер [24]. Полученные данные были использованы в дальнейшем при проведении ряда клинических испытаний, в частности по оценке эффективности и безопасности адъювантной интраоперационной ФДТ с ФС Фотолон у больных первично-мозговыми и метастатическими глиальными опухолями [22].

Несмотря на достаточно большое количество работ, направленных на выяснение фармакологических свойств Фотолон, его фармакокинетика и биодоступность в отношении целевых органов и тканей недостаточно хорошо изучены, что существенно затрудняет разработку новых схем проведения ФДТ, выбор оптимальных терапевтических доз данного ФС, а также создание новых лекарственных форм, более удобных для медицинского применения как в клинических, так и в амбулаторных условиях (мази, гели для наружного и местного применения, формы для перорального приема и пр.).

Известно, что образование комплекса «хлорин еб-ПВП» повышает стабильность ФС и его растворимость в воде, что теоритически должно повышать биодоступность и изменять фармакокинетические характеристики препарата. Учитывая это, целью настоящей работы являлось изучение абсолютной биодоступности ФС Фотолон при различных способах его введения в организм.

Методы исследования

Исследования фармакокинетики ФС Фотолон в условиях однократного внутривенного введения были выполнены на 18 кроликах породы Шиншилла обоего пола. Масса тела животных составляла $2457,0 \pm 81,0$ г (SD, $n=18$); в том числе у самцов – $2465,0 \pm 108,5$ г (SD, $n=9$), у самок – $2451,7 \pm 68,23$ г (SD, $n=9$). Для оценки абсолютной биодоступности ФС при интрагастральном введении, была сформирована отдельная группа животных, состоящая из 8 самцов массой $3520,0 \pm 114,5$ г (SD, $n=8$). Животные этой группы были разделены на две подгруппы по 4 особи в каждой. Для оценки кожно-резорбтивного действия и абсолютной биодоступности ФС Фотолон при накожной аппликации была сформирована дополнительная группа животных, состоящая из 8 самцов массой $2960,4 \pm 108,7$ г (SD, $n=8$). Все животные содержались в стандартных условиях вивария, на стандартном пищевом и питьевом рационе в соответствии с действующими нормами. Все эксперименты с лабораторными животными выполнены в соответствии с рекомендациями и требованиями «Всемирного общества защиты животных (WSPA)» и «Европейской конвенции по защите экспериментальных животных» (Страсбург, 1986).

При изучении параметров фармакокинетики ФС Фотолон вводили внутривенно (в ушную вену), однократно, в дозе $5,0$ мг/кг массы тела животного. Для оценки абсолютной биодоступности при интрагастральном введении ФС вводили в виде водного раствора, при помощи жесткого зонда, в желудок, в дозе 10 мг/кг (подгруппа А) или внутривенно, однократно, в той же дозе (подгруппа Б). Перед введением препарат растворяли в $0,9\%$ растворе хлорида натрия. При изучении кожно-резорбтивного действия и абсолютной биодоступности в условиях накожной аппликации ФС наносили на выстриженный участок кожи размером 5×5 см из расчета 2 мг/см². Время экспозиции ФС Фотолон при его накожной аппликации составляло 30 мин, 1 , 2 и 3 часа.

Образцы крови в количестве 2 мл на пробу отбирали в гепаринизированные пробирки из ушной вены кроликов через 20 мин, 30 мин, 40 мин; $1,0$; $1,5$; $2,0$; $3,0$; $3,5$; $4,5$; $8,0$; $10,0$; $24,0$; $48,0$; $72,0$ и $96,0$ часов после введения препарата Фотолон. Полученные образцы крови центрифугировали дважды (15 мин со скоростью 3000 об/мин), плазму крови помещали в пластиковые пробирки объемом 1 мл и замораживали при $-22,0^\circ\text{C}$.

Экстракцию ФС Фотолон из плазмы крови осуществляли смесью растворителей [метанол:раствор мочевины в диметилсульфоксиде] при объемном соотношении компонентов (4:1). Методика экстракции выглядела следующим образом: к аликвоте плазмы объемом $0,5$ мл приливали $0,2$ мл 10% -го раствора мочевины в диметилсульфоксиде и перемешивали на вортекс-миксере Genius-3 (IKA WERKE, Германия) в течение $1-2$ мин. Затем прибавляли $0,8$ мл метанола и, после интенсивного перемешивания в течении 1 мин, центрифугировали в течение 10 мин при 10000 g. Полученный супернатант фильтровали через фильтр с диаметром пор $0,45$ мкм и использовали для хроматографического анализа.

Анализ количественного содержания ФС Фотолон (по хлорину еб) проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе Varian, включающем насос Varian 9012 и спектрофотометрический детектор Varian 9050. Условия проведения ВЭЖХ анализа: колонка Waters XTerra RP-18 $150 \times 4,6$ mm, подвижная фаза А: $0,08\%$ раствор трифторуксусной кислоты, Б: ацетонитрил, градиентное элюирование $45 - 100\%$ фазы Б в течение 18 мин, поток – 1 мл/мин, температура 40°C , объем петли – 100 мкл, длина волны детектора – 407 нм. Количественное определение ФС Фотолон в образцах плазмы крови проводили методом абсолютной калибровки с использованием программного обеспечения VarianStar 4.51.

На основании результатов количественного определения ФС Фотолон в образцах плазмы крови рассчитывали следующие фармакокинетические параметры: C_{1x} (концентрации препарата Фотолон в крови в заданные промежутки времени после введения), C_0 (расчетный показатель, приближенно отражающий концентрацию препарата Фотолон в крови в момент времени « $t=0$ »), $AUC_{0 \rightarrow 2}$ (площадь под фармакокинетической кривой для периода $0 - 2$ часа с момента введения); $AUC_{2 \rightarrow \infty}$ (площадь под фармакокинетической кривой для периода 2

часа с момента введения и далее); $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (площадь под фармакокинетической кривой); K_{el} (константа элиминации); $T_{1/2}$ (период полувыведения для фазы α); $T_{1/2}$ (период полувыведения для фазы β); $AUMC$ (площадь под кривой «произведение времени на концентрацию препарата (tC) – время (t)»); MRT (среднее время удержания препарата Фотолон в системном кровотоке (для фазы α)); Cl (клиренс).

Показатель абсолютной биодоступности F Фотолон (F) в условиях однократного интрагастрального введения или накожной аппликации рассчитывали по формуле:

$$F = \frac{AUC(0 \rightarrow 180)_{\text{интрагастр. или накожн.}} \times D1}{AUC(0 \rightarrow 180)_{\text{в/в}} \times D2},$$

где F – показатель абсолютной биодоступности исследуемого ФС;

$AUC(0 \rightarrow 180)_{\text{интрагастр. или накожн.}}$ – площадь под фармакокинетической кривой для периода 0–180 мин с момент интрагастрального введения или накожной аппликации исследуемого ФС;

$AUC(0 \rightarrow 180)_{\text{в/в}}$ – площадь под фармакокинетической кривой для периода 0–180 мин с момента внутривенного введения исследуемого ФС;

$D1$ – доза ФС, введенная внутривенно;

$D2$ – доза ФС, введенная интрагастрально или нанесенная на кожу.

Полученные экспериментальные данные подвергались статистической обработке с помощью программы «Statistica» v.7.0, ORIGIN-Pro v.8.0. Рассчитывались следующие описательные статистики: среднее арифметическое значение, медиана, нижний квартиль, верхний квартиль, стандартное отклонение среднего результата, стандартная ошибка среднего результата. Проводилась статистическая обработка натуральных и \ln -преобразованных данных. Достоверность различий определяли с помощью критерия Манна-Уитни. Уровень значимости был принят равным 0,05.

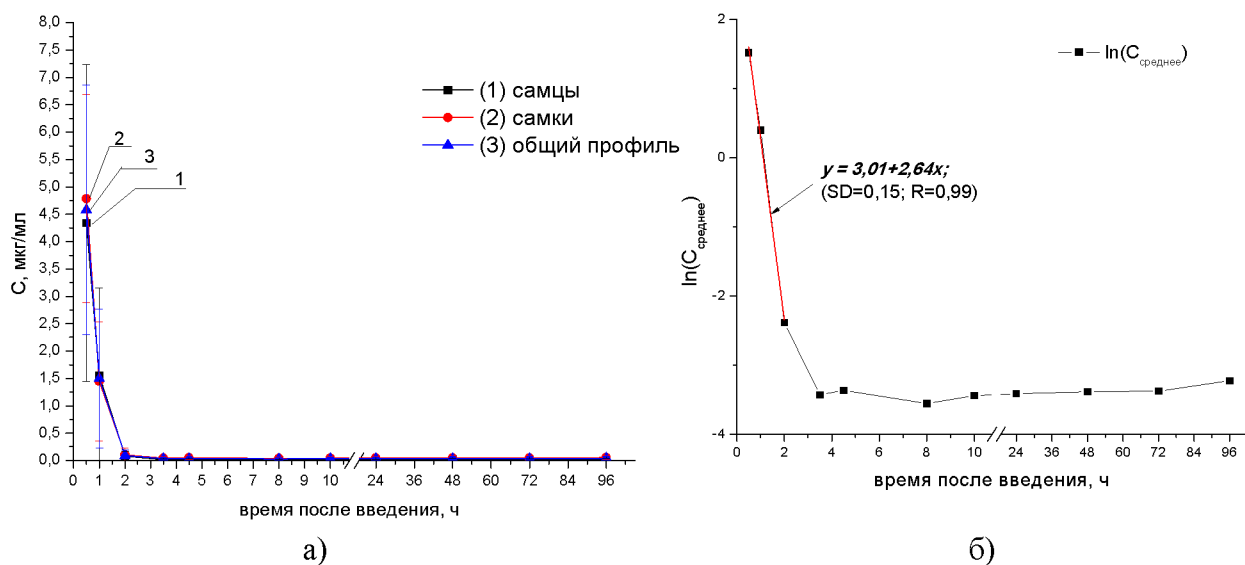
Результаты и обсуждение

Оценку динамики изменения концентрации ФС Фотолон в крови экспериментальных животных (кролики) проводили после однократного внутривенного введения препарата в дозе 5,0 мг/кг. На рисунке 1 приведены кривые, иллюстрирующие динамику изменения концентрации ФС Фотолон в плазме крови после однократного внутривенного введения (усредненные профили, в т.ч. профили для самцов и самок).

Установлено, что в реперной точке «0,5 ч» концентрации препарата варьируют в пределах $5,014 \pm 0,59$ мкг/мл (SE, N=18). В точках «1 ч» и «2 ч» концентрации Фотолон в плазме крови составляют $1,631 \pm 0,40$ мкг/мл (SE, N=18) и $0,10 \pm 0,04$ мкг/мл (SE, N=18). В точке «2 ч» концентрация препарата $0,10 \pm 0,04$ мкг/мл соответствует нижнему пределу валидированного диапазона определения препарата методом ВЭЖХ. Для самцов в точке «0,5 ч» концентрация препарата Фотолон составляет $5,36 \pm 1,02$ мкг/мл (SE, N=9). В точках «1 ч» и «2 ч» концентрация Фотолон в плазме крови самцов составляла $1,91 \pm 0,80$ мкг/мл (SE, N=9) и $0,10 \pm 0,05$ мкг/мл (SE, N=9), соответственно. Для самок в точке «0,5 ч» концентрации препарата изменяются в диапазоне $4,78 \pm 0,77$ мкг/мл (SE, N=9). В точках «1 ч» и «2 ч» концентрация Фотолон в сыворотке крови составляла $1,44 \pm 0,44$ мкг/мл (SE, N=9) и $0,10 \pm 0,05$ мкг/мл (SE, N=9), соответственно. Различия значений, полученные для самцов и самок, недостоверны ($p > 0,05$), что указывает на отсутствие половых различий в кинетике выведения препарата из кровяного русла при внутрисосудистом введении (рисунок 1).

Логарифмическое преобразование зависимости концентрации препарата от времени за период исследования «0,5–2 ч» позволяет сделать предположение о линейности фармакокинетики исследуемого препарата в указанном временном интервале (рисунок 1б). Для суммарного профиля (объединенного для 18 животных) получено уравнение линейной зависимости в полулогарифмических координатах ($\ln C_{0,5 \rightarrow 2}$): $y = 3,01 + 2,64x$ (SD=0,15; R=0,99). Аналогичным образом, для каждого из экспериментальных животных получены уравнения линейной зависимости в полулогарифмических координатах ($\ln C_t$) – время (t), с последующим определением величины $\ln C_0$ и расчетом соответствующего значения C_0 .

Среднее значение C_0 (расчетная концентрация препарата Фотолон в точке «0») составляет $27,98 \pm 7,61$ мкг/мл (SE, N=18). Соответствующие показатели C_0 для *самцов* составляют $35,25 \pm 17,46$ мкг/мл (SE, N=9), для *самок* – $23,13 \pm 6,33$ мкг/мл (SE, N=9). Различия значений, полученные для самцов и самок, недостоверны ($p > 0,05$).



а) нормальные величины; б) ln-преобразованные данные

Рисунок 1 – Изменение концентрации ФС Фотолон в плазме крови во времени после однократного внутривенного введения в дозе 5 мг/кг

Изменения уровня концентрации препарата Фотолон в интервале времени «0–2 ч» соответствуют фазе «быстрого» выведения препарата (α -фаза). За интервал времени «0,5–2 часа» концентрация Фотолона в плазме крови снижается более чем в 50 раз. С учетом рассчитанного значения концентрации препарата в точке «0», можно предположить, что соответствующий показатель в точке «2 часа» меньше уровня C_0 приблизительно в 300 раз.

Расчет показателей AUMC, MRT, CI проводили для фазы α . Величина показателя AUMC (площадь под кривой «произведение времени на концентрацию фармакологического средства (tC) – время (t)», в период 0–2 ч) составляет 2,12. Значение MRT (среднего времени удержания Фотолона в системном кровотоке для фазы α), оценено как 0,2 час. Показатель «клиренс» в этих же условиях определения равен 222 мл/час.

Через 2–3,5 часа после введения ФС Фотолон присутствует в крови в концентрациях меньших, чем нижний предел валидированного диапазона количественного определения. В связи с этим расчетные величины фармакокинетических показателей, характеризующих β -фазу элиминации препарата, определены предварительно и можно ожидать, что уровень погрешности для этих данных существенно выше такового для фармакокинетических расчетов в фазу α . Период полувыведения $T_{1/2}$ (для фазы β) ориентировочно определен как равный 11,0 часов. Константа элиминации K_{el} (для фазы β) составляет, по полученным данным, $0,0629 \text{ час}^{-1}$. Значения основных фармакокинетических параметров ФС Фотолон в условиях однократного внутривенного введения кролям в дозе 5 мг/кг приведены в таблице 1.

На основании полученных результатов можно заключить, что ФС Фотолон быстро покидает кровяное русло и распределяется в тканях организма. Значения фармакокинетических показателей, характеризующих скорость выведения препарата из крови в фазу α , найдены равными – $T_{1/2} = 0,30 \pm 0,05$ ч, $K_{el\alpha} = 2,71 \pm 0,34$. При введении в дозе, двукратно превышающей эффективную дозу при лечении опухолей у животных, препарат не создает высоких (потенциально опасных) концентраций в крови, и его содержание в плазме уменьшается до микроколичеств в течение 2-х часов после введения. Полученные данные хорошо согласуются с ранее полученными результатами по накоплению препарата в опухолевой и здоровой тканях [24]. В период 3,5–5 ч, соответствующий минимальной

концентрации препарата Фотолон в плазме крови после введения (т.е. перераспределение между кровяным руслом и тканями внутренних органов), отмечается максимальное накопление препарата в опухолевой ткани. При пересчете дозы 5 мг/кг для кролика на эквивалентную для человека в условиях однократного введения, исходя из коэффициентов, предложенных Freirech E.J., 1966 [25], соответствующая доза равна 1,7–1,9 мг/кг. Период полувыведения у человека, определенный с помощью формулы $T_{1/2h} = (m_h/m_a) \cdot 0,25 \cdot T_{1/2a}$, (где $T_{1/2h}$ и $T_{1/2a}$ – период полувыведения, m_h и m_a – масса тела у человека и у животного, соответственно) равен около 2 часов. Следовые количества препарата Фотолон у животных определяются через 2 часа. Используя зависимость, аналогичную приведенной выше, можно прогнозировать, что у человека уровень следовых количеств препарата в крови будет достигнут через 14 часов.

Таблица 1 – Параметры фармакокинетики ФС Фотолон при однократном внутривенном введении кроликам в дозе 5 мг/кг

Параметр	Самцы (n=9)	Самки (n=9)	Общее среднее (n=18)
C_0 , мкг/мл	32,25±17,46	23,13±6,33	27,98±7,61
$T_{1/2a}$, ч	0,4±0,1	0,3±0,04	0,3±0,05
$T_{1/2\beta}$, ч			80,6±0,07
$K_{el\alpha}$, ч ⁻¹	2,45±0,58	2,9±0,45	2,71±0,34
$K_{el\beta}$, ч ⁻¹			0,009±0,0001
$AUC_{0 \rightarrow 2ч}$, мкгх ч/мл	12,98±5,37	9,31±2,09	10,78±2,38
$AUC_{2 \rightarrow \infty}$, мкгх ч/мл	11,34±5,96	12,01±6,0	11,74±4,09
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$, мкгх ч/мл	24,31±5,11	21,32±6,6	22,52±4,25
$AUMC_{0 \rightarrow 2ч}$			2,12±0,6
$Cl_{общий}$			222,02±63,7
MRT, ч			0,2±0,0005

При внутривенном введении ФС Фотолон кроликам в дозе 10 мг/кг массы тела, в реперной точке «20 мин», концентрация препарата в плазме крови варьировала в пределах 41,13±0,44 мкг/мл (SE, n=4). Логарифмическое преобразование данных зависимости концентрации препарата от времени за период исследования «20 мин–1,5 ч» позволяет сделать предположение о линейности фармакокинетики исследуемого препарата в указанном временном интервале. Для суммарного профиля (объединенного для 4 животных) получено уравнение линейной зависимости в полулогарифмических координатах ($\ln C_{0,33}$ ч \rightarrow 1,5 ч): $y=3,91-0,01x$ (SD=0,1; R=0,99). Аналогичным образом, для каждого из экспериментальных животных были получены уравнения линейной зависимости в полулогарифмических координатах ($\ln C_t$) – время (t), с последующим определением величины $\ln C_0$ и расчетом соответствующего значения C_0 . Среднее значение параметра C_0 (расчетная концентрация ФС Фотолон в плазме крови в момент времени «t=0»), составляет 49,91±0,27 мкг/мл (SE, n=4).

На втором этапе эксперимента нами была исследована фармакокинетика и абсолютная биодоступность лекарственного средства его интрагастральном введении. Установлено, что при введении препарата в желудок в дозе 10 мг/кг, Фотолон всасывается в системный кровоток. Максимальная концентрация ФС в крови достигается через 20 мин после введения и составляет 10,2±3,16 мкг/мл (SE, n=4). Среднее время удержания препарата в системном кровотоке составляет 0,66±0,04 ч (SE, n=4). Рассчитанные фармакокинетические параметры ФС Фотолон при его внутривенном и интрагастральном введениях кроликам в дозе 10 мг/кг приведены в таблице 2. Соответствующие кривые, иллюстрирующие динамику изменения концентраций ФС Фотолон в плазме крови кроликов, приведены на рисунке 2.

Как следует из представленных в таблице 2 данных, среднее значение параметра «площадь под кривой [концентрация-время]» в интервале времени от 0 до 3 часов ($AUC_{0 \rightarrow 180 \text{ ч}}$) после однократного внутривенного и интрагастрального введений в ФС Фотолон в дозе 10 мг/кг массы тела составляет $50,97 \pm 2,45$ и $7,36 \pm 1,1$ мкгч/мл, соответственно. Среднее время удержания препарата в системном кровотоке (MRT) при интрагастральном введении ФС составляет $1,26 \pm 0,01$ ч.

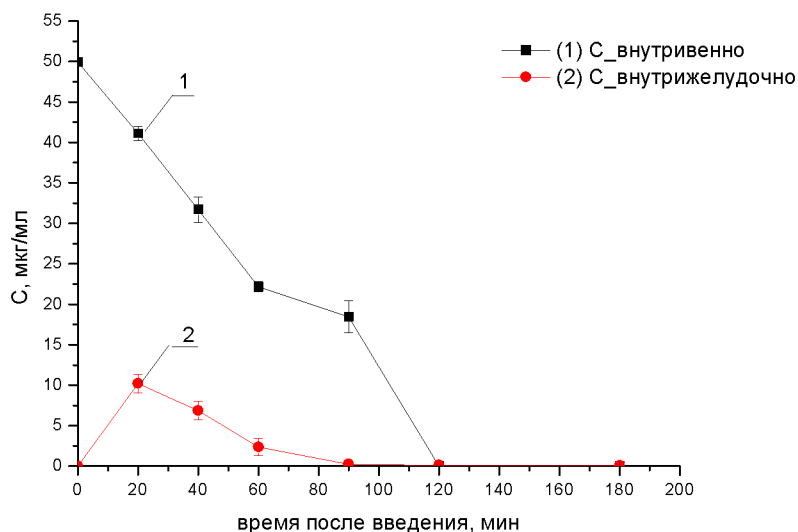


Рисунок 2 – Изменение концентрации ФС Фотолон в плазме крови во времени (усредненные профили «концентрация-время») после однократного внутрижелудочного и внутривенного введения кроликам в дозе 10 мг/кг

Таблица 2 – Основные параметры фармакокинетики ФС Фотолон при однократном внутривенном и интрагастральном введении кроликам в дозе 10 мг/кг

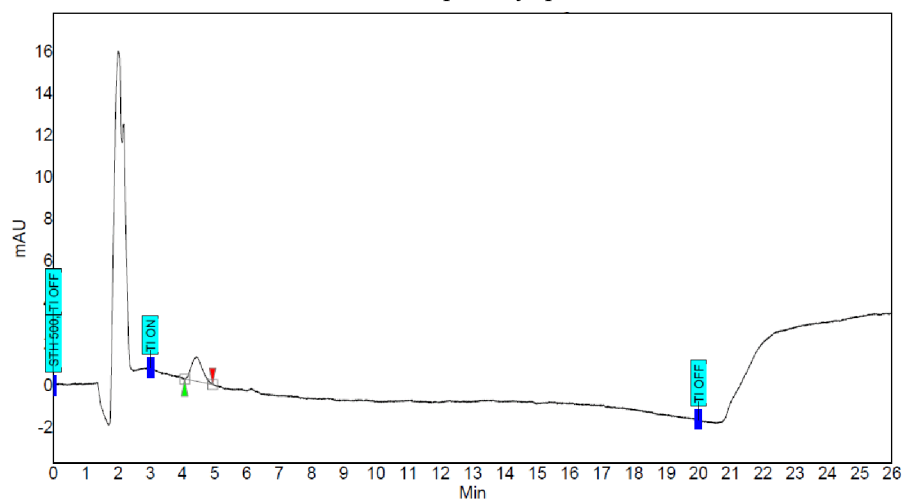
Параметр ФК	Внутривенное введение	Внутрижелудочное введение
C_0 , мкг/мл	$49,91 \pm 0,27$	$0,0 \pm 0,0$
C_{max} , мкг/мл	$49,91 \pm 0,27$	$10,2 \pm 0,16$
T_{Cmax} , ч	-	$0,33 \pm 0,01$
$T_{1/2}$, ч	$0,21 \pm 0,01$	$0,35 \pm 0,01$
K_{el} , ч ⁻¹	$3,24 \pm 0,01$	$2,12 \pm 0,01$
$AUC_{0 \rightarrow 3}$, мкг х ч/мл	$50,97 \pm 2,45$	$7,36 \pm 0,09$
$AUMC_{0 \rightarrow 3}$	$34,67 \pm 1,11$	$4,76 \pm 0,07$
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$, мкг х ч/мл	$50,97 \pm 2,96$	$7,39 \pm 0,08$
$AUMC_{0 \rightarrow \infty}$	$34,68 \pm 1,21$	$4,86 \pm 0,04$
MRT, ч	$0,66 \pm 0,01$	$1,26 \pm 0,01$
F, %	100,0	14,4

Абсолютная биодоступность препарата – 14,4%. Относительно невысокая величина показателя биодоступности препарата может быть обусловлена гидролизом натриевой соли хлорина еб (присутствующей в составе ФС Фотолон) с образованием нерастворимого хлорин еб в кислой среде желудка. Тем не менее, полученные в результате исследований доказательства того, что ФС Фотолон поступает из желудочно-кишечного тракта в системный кровоток, создают предпосылки для проведения дальнейших фармакокинетических исследований с целью установления равновесных концентраций ФС при его кратном интрагастральном введении. Полученные первоначальные экспериментальные данные о биодоступности свидетельствуют о потенциальной возможности перорального введения ФС Фотолон.

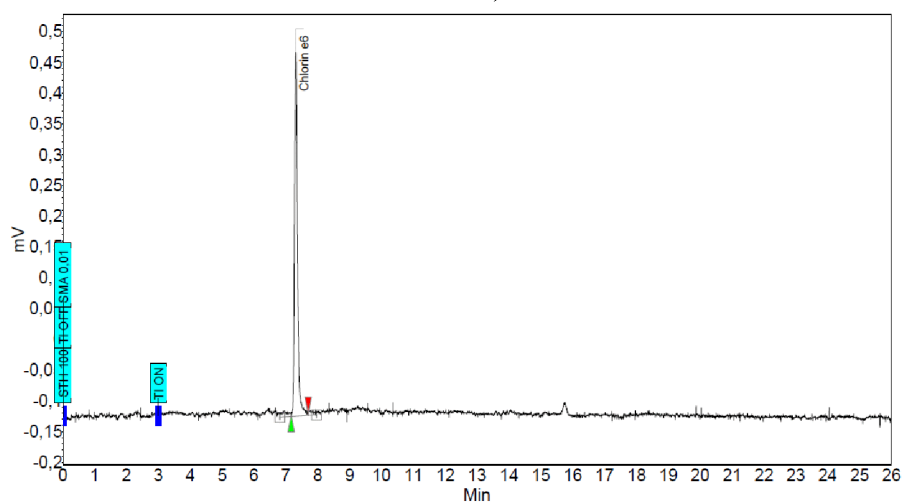
При изучении возможного кожно-резорбтивного действия препарата Фотолон при

однократной аппликации на участок кожи размером 5x5 см в дозе 2 мг/см² с экспозицией 0,5–3 часа, было установлено, что активное вещество препарата (хлорин еб) не обнаруживается в системном кровотоке в концентрациях, соответствующих валидированным диапазонам обнаружения и количественного определения в заданных условиях хроматографического анализа. На хроматограммах экстрактов из образцов плазмы крови отсутствуют пики, соответствующие времени удерживания хлорина еб в заданных условиях хроматографического анализа (рисунок 3).

В то же время, в работе [26] Istomin Yu.P. и соавт., в экспериментах на крысах с перевивными опухолями, показали, что при локальной аппликации на поверхность перевивной опухоли мази, содержащей ФС Фотолон, содержание активного вещества в опухолевой ткани сопоставимо с таковым при внутривенном введении ФС.



а)



б)

а) образец плазмы крови, полученный после накожной аппликации ФС Фотолон; б) «модельный» образец плазмы крови, содержащий хлорин еб в концентрации 0,1 мкг/мл

Рисунок 3 – Образцы хроматограмм полученных для экстрактов из плазмы крови в описанных условиях хроматографического анализа

Кроме того в этих экспериментах были получены данные, свидетельствующие о том, что противоопухолевая эффективность ФДТ с локальным применением ФС Фотолон не уступает таковой при системном введении препарата [26]. Принимая во внимание результаты нашего исследования, свидетельствующие о том, что ФС фотолон либо не поступает в системный кровоток, либо поступает туда в крайне малых количествах (менее 0,007 мкг/мл), наиболее вероятной представляется гипотеза о том, что при накожной

аппликации ФС фотолон накапливается в зоне аппликации и в подлежащих тканях и не достигает системного кровотока в значимых количествах, тем самым не оказывая системных эффектов. Можно также предположить, что наличие перевивной опухоли, растущей подкожно, изменяет проницаемость кожи для ФС и, тем самым, повышает его биодоступность для прилегающих тканей.

Выводы

В результате проведенных экспериментов установлено, что при внутривенном введении ФС Фотолон быстро покидает кровяное русло и распределяется в тканях организма. Значения фармакокинетических показателей, характеризующих скорость выведения препарата из крови в фазе α , найдены равными – $T_{1/2} = 0,30 \pm 0,05$ ч, $Kel_{\alpha} = 2,71 \pm 0,34$. Различия значений C_t (для периода 0–2 ч после введения), AUC, $T_{1/2}$, Kel_{α} , полученные для самцов и самок, недостоверны ($p > 0,05$), что подтверждает отсутствие половых различий фармакокинетики препарата при внутривенном введении. Прогнозируемый период полувыведения у человека составляет около 2 часов, уровень следовых количеств препарата в крови будет достигнут через 14 часов. Полученное значение $T_{1/2h}$, позволяет прогнозировать длительность циркуляции лекарственного средства в системном кровотоке у человека (10–12 часов), что является актуальным при разработке и оптимизации режимов ФДТ различных заболеваний.

При интрагастральном введении кроликам в дозе 10 мг/кг массы тела, максимальная концентрация ФС Фотолон в плазме крови ($10,2 \pm 1,16$ мкг/мл) достигается через $0,33 \pm 0,01$ часа. Абсолютная биодоступность препарата при данном способе введения составляет 14,4%, среднее время удержания в системном кровотоке – $1,26 \pm 0,01$ ч. Установленная способность ФС Фотолон поступать в системный кровоток при интрагастральном введении создает предпосылки для проведения дальнейших фармакологических исследований препарата в условиях перорального приема.

При аппликации ФС Фотолон на участки неповрежденной кожи, активное вещество препарата, по всей видимости не проникает в системный кровоток, либо проникает в него в крайне малых количествах. Таким образом, ФС Фотолон обладает минимальным кожно-резорбтивным действием, либо оно полностью отсутствует. Риск развития системных нежелательных реакций при использовании лекарственных форм данного ФС для наружного применения при проведении ФДТ минимален.

Список литературы:

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.

8. Chlorin e6-polyvinylpyrrolidone as a fluorescent marker for fluorescence diagnosis of human bladder cancer implanted on the chick chorioallantoic membrane model / W.W.L. Chin [et al.] // *Cancer Lett.* – 2007. – Vol. 245. – P. 127–133.
9. The potential application of chlorin e6-polyvinylpyrrolidone formulation in photodynamic therapy / W.W.L. Chin [et al.] // *J. Photochem. Photobiol. Sci.* – 2006. – № 5. – P. 1031–1037.
10. Fluorescence imaging and phototoxicity effects of new formulation of chlorin e6-polyvinylpyrrolidone / W.W.L. Chin [et al.] // *J. Photochem. Photobiol.* – 2006. – Vol. 84. – P. 103–110.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. The use of PVP as a polymeric carrier to improve the plasma half-life of drugs / Y. Kaneda [et al.] // *Biomaterials.* – 2004. – Vol. 25. – P. 3259–3266.
16. Liposome, new systems and new trends in their application / F. Puisieux [et al.] // *Editions de Sante*, 1995. – P. 797.
17. 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. – P. 73806V-2.
18. Photodynamic therapy in combined treatment modalities of disseminated melanoma / M. Kaplan [et al.] // *J. Photodiagn. Photodyn. Ther.* – 2008. – Vol. 5 (suppl. 1). – P. S9–S9.
19. Ragulin, Y.A. Photodynamic therapy with chlorine photosensitizers on the central lung cancer / Y.A. Ragulin, M.A. Kaplan, V.N. Medvedev // *J. Thoracic Oncology.* – 2007. – Vol. 2 (8). – P. S622–S623.
20. 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–S6.
21. Photodynamic therapy of choroidal neovascularization in age related macular degeneration with Photolon / L.N. Marchanka [et al.] // *Abstracts of the 10-th World congress of the International Photodynamic Association, Munich, 2005.* – P. 127.
22. 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.
23. Jeromin, L. Photodynamic therapy of bladder tumors with new photosensitizer Photolon: pilot study / L. Jeromin, C. Peszynski-Drews, M. Lipinski // *Acta Biooptic. Inform. Med.* – 2004. – Vol. 10. – P. 10–14.
24. Pharmacokinetics and biodistribution of Photolon (Fotolon) in intact and tumor-bearing rats / S.V. Shliakhtsin [et al.] // *J. Photodiagn. Photodyn. Ther.* – 2009. – Vol. 6. – P. 97–104.
25. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey and man / E.J. Freirech [et al.] // *Cancer Chemother. Rep.* – 1966. – Vol. 50, № 4 – P. 219–244.
26. Photodynamic efficacy of topical application of chlorin e6-polyvinylpyrrolidone complex in tumor-bearing rats / Y.P. Istomin [et al.] // *Exp. Oncol.* – 2006. – Vol. 28, №4. – P. 299–302.

**PHARMACOKINETICS AND BIOAVAILABILITY OF THE PHOTOSENSITISER
PHOTOLON (AN EXPERIMENTAL STUDY)****S.V. Shliakhtsin, T.V. Trukhachova, G.A. Isakau, S.L. Fedoruk, I.V. Semak****RUE «Belmedpreparaty», Minsk, Belarus***Belarusian State University, Minsk, Belarus*

Pharmacokinetics and bioavailability of the photosensitizer Photolon at different routes of administration were studied in Chinchilla rabbits by means of high-performance liquid chromatography with prior liquid/liquid extraction of the compound. It was shown, that after single intravenous injection at a dose of 5 mg/kg Photolon rapidly leaves the bloodstream and spreads in tissues. The half-life of the photosensitizer in the bloodstream was found as $0,30 \pm 0,05$ h whereas the elimination rate constant (K_{el}) was $2,71 \pm 0,34$. The relevant half-life for humans was estimated as 2,0. After oral administration at a dose of 10 mg/kg the bioavailability of the photosensitizer was about 14,4%. The maximum level of the compound in the blood ($C_{max} = 10,2 \pm 1,16$ $\mu\text{g/ml}$) was found in $0,33 \pm 0,01$ h after oral administration of the photosensitizer. The mean residual time (MRT) in the bloodstream was $1,26 \pm 0,01$ h. After topical application on skin the photosensitizer did not penetrate into the bloodstream in detectable amounts (more than 0,07 $\mu\text{g/ml}$) and thus it did not provide any systemic effects and the risk of systemic adverse events is very low. Results of our study create the prerequisites for further studies of absolute and relative bioavailability of Photolon after its oral administration aimed at the development of novel ready forms of the photosensitizer as well as at the modification of existing treatment regimens.