

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy
Kandidát: Mgr. Jan Kollár
Školitel: prof. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.
Konzultant: doc. PharmDr. Veronika Nováková, Ph.D.
Disertační práce: Syntéza anionických derivátů ftalocyaninů jako potenciálních fotodynamicky aktivních látek

Ftalocyaniny (Pc) a jejich aza-analogy (např. tetrapyrazinoporfyraziny TPyzPz) představují nadějnou skupinu organických barviv se zajímavými fotofyzikálními vlastnostmi (silná absorpce v oblasti 650-750 nm, vysoká produkce singletového kyslíku) velmi vhodnými pro použití ve fotodynamické terapii (PDT) nádorových onemocnění. Mají však také některé nevýhody snižující jejich potenciální použití v PDT (nízká rozpustnost ve vodě, silná tendence k agregaci).

Téma mé disertační práce úzce navazuje na téma mé diplomové práce, během které byl připraven TPyzPz s 16 karboxylátovými skupinami v rigidním uspořádání, u kterého jsme pozorovali výrazný negativní vliv pH a sérových proteinů na fotodynamickou aktivitu.

V první části disertační práce jsem proto připravil nový zinečnatý TPyzPz s 8 sulfonátovými skupinami na periferii charakterizovaný dobrou rozpustností ve vodě. Sulfonové kyseliny byly vybrány jako silnější kyseliny než karboxylové, takže se očekávalo, že vliv pH bude výrazně omezen. K významné agregaci opravdu došlo až při pH 2,5 v důsledku ztráty odpudivých sil po protonizaci sulfonátových skupin. Změny absorpčního i fluorescenčního spektra naznačovaly také silnou interakci TPyzPz s hovězím sérovým albuminem (BSA). Vazba na BSA vedla k významnému zhášení singletového excitovaného stavu fotosenzitizeru a k prodloužení životnosti tripletových stavů v důsledku omezené difuze kyslíku k excitovanému TPyzPz. Fotodynamická aktivita sulfonovaného TPyzPz byla také silně ovlivněna vazbou na BSA; byla přibližně 100× nižší v kultivačním médiu obsahujícím sérum než v bezsérovém médiu. Fluorescenční mikroskopie odhalila lyzosomy jako místo lokalizace TPyzPz a jejich rupturou po ozáření došlo k uvolnění TPyzPz do cytoplazmy.

Ve druhé části této práce jsem se zaměřil na sérii anionických a kationických Pc a zkoumal jsem jejich fotofyzikální, fyzikálně-chemické, vazebné a biologické vlastnosti

s cílem nalézt parametry a/nebo faktory, které mohou přispět k podstatnému rozdílu fotodynamické aktivity mezi Pc nesoucími opačné náboje periferních substituentů. Do studie pro porovnání jak vlivu typu náboje, tak jeho distribuce na jádru makrocyklu byly zařazeny čtyři různé skupiny sloučenin, a to anionické hydrofilní, kationické hydrofilní, anionické amfifilní a kationické amfifilní. Všechny anionické deriváty byly agregovány při pH 4,9 (intralyzosomální pH), zatímco kationické deriváty nebyly hodnotou pH ovlivněny. Anionické deriváty (nikoliv kationické) také silně interagovaly s BSA, což vedlo k silnému potlačení excitovaných stavů. Všechny Pc byly testovány *in vitro* na fotodynamickou aktivitu na HeLa, MCF-7 a HCT 116 buňkách s různou aktivitou pro anionické Pc ($EC_{50} \sim 0,3-10 \mu\text{M}$) a mnohem vyšší aktivitou pro kationické Pc ($EC_{50} \sim 3-50 \text{ nM}$). Fotodynamická aktivita anionických Pc se zlepšila, když byly buňky testovány v bezsérovém médiu, což naznačuje významný vliv séra. Celkovým srovnáním výsledků jednotlivých látek jsme v této práci zjistili, že okolní pH, vazba na sérové proteiny, interakce s biomembránami, subcelulární lokalizace a relokalizace po ozáření jsou hlavními faktory pro nižší fotoaktivitu anionických Pc v porovnání s kationickými Pc.