

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
KATEDRA BIOCHEMICKÝCH VĚD**

**FOTOSENZITIZÉRY VE FOTODYNAMICKÉ  
TERAPII NÁDORŮ**

**Bakalářská práce**

**Vedoucí diplomové práce: Mgr. Miloslav Macháček**

**Hradec Králové 2016**

**Kristýna Šulcová**

Tímto bych chtěla poděkovat svému školiteli Mgr. Miloslavu Macháčkovi za výborné vedení mé bakalářské práce, za jeho ochotu, odbornou pomoc a především cenné připomínky a rady. Také bych chtěla poděkovat své rodině a blízkým za jejich podporu a pomoc.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 2016

.....

# 1 Obsah

1	Obsah.....	4
2	Úvod .....	5
3	Seznam zkratek.....	6
4	Fotodynamická terapie .....	8
4.1	Historie fotodynamické terapie .....	9
4.2	Mechanismus fotodynamické reakce .....	10
4.3	Kyslík ve fotodynamické terapii .....	11
4.4	Světlo ve fotodynamické terapii.....	12
4.5	Nádorové onemocnění .....	14
4.5.1	Rozdělení nádorů.....	14
4.5.2	Maligní transformace buňky .....	15
4.5.3	Metastázování.....	16
4.5.4	Karcinogenní faktory.....	17
5	Fotosenzitizéry .....	19
5.1	Ideální fotosenzitizér .....	19
5.2	Strukturní rozdělení.....	19
5.3	Porfyriny, chloriny a bakteriochloriny .....	20
5.4	Typy fotosenzitizérů.....	21
5.4.1	Fotosenzitizéry první generace.....	21
5.4.2	Fotosenzitizéry druhé generace .....	23
5.4.3	Neporfyrinové fotosenzitizéry.....	37
5.4.4	Fotosenzitizéry třetí generace.....	41
6	Závěr.....	45
7	Seznam použité literatury .....	46

## 2 Úvod

Téma *Fotosenzitizéry ve fotodynamické terapii nádorů* jsem si pro svou práci vybrala, jelikož již dříve jsem o fotodynamické terapii slyšela a velice mě zaujal její princip. V dnešním světě, ve kterém jsou nádorová onemocnění jednou z nejčastějších příčin úmrtí, je rozvíjející se fotodynamická terapie dalším krokem ke zlepšení léčby této závažné a stále běžnější nemoci. Oproti klasickým léčebným metodám se odlišuje přímým působením na postiženou tkáň bez poškození okolních zdravých částí těla. Velkou výhodou také je, že po ošetření nevznikají, jako u běžně používaných metod, vedlejší účinky. Jedinou nevýhodou bývá více či méně závažná nežádoucí fotosenzitivita, kterou se však vývojem nových fotosenzitizérů daří úspěšně snižovat.

### 3 Seznam zkratek

$^1\text{O}_2$	kyslík v singletovém stavu
$^3\text{O}_2$	kyslík v tripletovém stavu
ALA	kyselina 5-aminolevulová ( <i>5-aminolevulinic acid</i> )
AMD	věkem podmíněná makulární degenerace ( <i>age-related macular degeneration</i> )
AzaPc	azaftalocyanin ( <i>azaphthalocyanine</i> )
BDP	benzoporfyrinový derivát ( <i>benzoporphyrine derivate</i> )
CFN	Centrum fotonické medicíny
CNV	choroidální neovaskularizace
EBV	Epstein – Baarové virus
FDA	Americký úřad pro kontrolu potravin a léčiv ( <i>Food and Drug Administration</i> )
HALA	hexaminolevulová kyselina
HBV	Virus hepatitidy B ( <i>Hepatitis B virus</i> )
HpD	derivát hematoporfyrinu
HPPH	2-(1-hexyloxyethyl)-2-devinyl pyrofeoforbid
HPV	Lidský papilomavirus ( <i>Humanpapilloma virus</i> )
i. v.	intravenózní/intravenózně
KSHV	virus spojený s Kaposiho sarkomem ( <i>Kaposi's sarcoma – associated herpesvirus</i> )
LDL	lipoprotein s nízkou hustotou ( <i>low density lipoprotein</i> )
MALA	methyl-aminolevulová kyselina
MB	methylenová modř ( <i>methylen blue</i> )
m-THPC	<i>m</i> -tetrahydroxyfenylchlorin
NP1/NP2	Hypocrelin A/B
Npc	naftalocyanin ( <i>naphthalocyanine</i> )
p. o.	perorální/perorálně
Pc	ftalocyanin ( <i>phthalocyanine</i> )
Pc4	ftalocyanin obsahující ve své centru křemík

P-DCUC	konjugát porfyriu
PDT	fotodynamická terapie ( <i>photodynamic therapy</i> )
PEG-PCL	poly(ethylenglykol)-poly( $\epsilon$ -kaprolakton)
P-Me	konjugát porfyriu
P-OGal	konjugát porfyriu
PS	fotosenzitizér ( <i>photosensitizer</i> )
ROS	reaktivní formy kyslíku ( <i>reactive oxygen species</i> )
Sinc	křemičitý naftalocyanin
TH 9409	4,5 – dibromrhodamin methyl ester
TPPS4	sulfonový derivát porfyriu
TT	thyminové dimery
VTP	na cévy zaměřená fotodynamická terapie ( <i>vascular-targeted photodynamic therapy</i> )
WST09	padoporfin (Tookad <sup>®</sup> )
WST11	padeliporfin (Tookad <sup>®</sup> Soluble)
ZnPc	ftalocyanin obsahující ve svém centru zinek
ZnPCS4	zinečnatý ftalocyanintetrasulfonát

## 4 Fotodynamická terapie

Fotodynamická terapie (PDT) patří mezi perspektivní léčebné metody především nádorových, ale i nenádorových onemocnění. Vyžaduje tři základní komponenty, a to fotosenzitizér, aktivující světlo odpovídající absorpčnímu pásu fotosenzitizéru (PS) a molekulární kyslík ( $^3\text{O}_2$ ). Samy o sobě jsou jednotlivé látky netoxické a neprokazují žádné biologické účinky. Díky jejich interakci však dochází k fotochemické reakci, jež vede k narušení struktur buňky a tím k jejímu poškození až smrti (Hopper 2000, National cancer institute – Photodynamic therapy).

Klasická protinádorová terapie, která zahrnuje chirurgické odstranění, chemoterapii a ozařování, se po celou dobu užívání snaží o dosažení jakési rovnováhy mezi zničením nádorových buněk a zachováním zdravé okolní tkáně. To se však bohužel stále zcela nedaří. Na rozdíl od těchto klasických způsobů léčby můžeme u fotodynamické terapie mluvit o dosažení této rovnováhy. Účinně jsou zasahovány výhradně tumorové buňky obsahující nahromaděný PS, jež byly ozářeny aktivujícím světlem, zatímco okolní buňky zůstávají nepoškozené (Zimčik a Miletín 2004).

Jednou z podmínek této metody je aplikace PS do postižené tkáně. Tato tkáň je po určité době ozářena světlem odpovídající vlnové délky a intenzity. Daný PS se po absorpci excituje a předá energii  $^3\text{O}_2$ , ze kterého vznikají reaktivní formy kyslíku (ROS), z nichž nejdůležitější je singletový kyslík ( $^1\text{O}_2$ ). ROS napadají okolní biomolekuly, dochází k narušení jejich funkcí a postupnému zániku buňky (Hopper 2000, National cancer institute – Photodynamic therapy).

Protinádorové účinky této metody však nevychází jen z přímého cytotoxického působení na nádorovou buňku – popsány byly další dva hlavní mechanismy. Dochází také k poškození cévní mikrocirkulace nádoru, čímž je přerušeno jeho vyživování a přísun kyslíku. Dále je vyvolána místní zánětlivá reakce účastníci se na odstraňování poškozených a mrtvých buněk a obnovení homeostázy. V některých případech může dojít k vytvoření systémové imunitní odpovědi. Vznik a intenzita těchto mechanismů je závislá na typu a dávce použitého PS, době mezi podáním PS a ozářením, na celkové intenzitě světla a délce jeho působení a také na koncentraci kyslíku v nádoru. Proto je velmi složité stanovit přesné podmínky pro správné užívání PDT (National cancer institute – Photodynamic therapy, Zimčik a Miletín 2004).



Aplikace PS probíhá buď lokálně, nebo systematicky. Pokud je látka aplikována systematicky, dochází k jejímu zachycování jak v maligních buňkách, tak i v ostatních částech těla, odkud je ovšem vyplavována mnohem rychleji než z tumorové tkáně. Proto je důležité provádět ozáření až po určité době, kdy dojde k vyplavení této látky z nenádorových buněk a masivní akumulaci v buňkách nádorových (Hopper 2000).

Fotodynamická terapie patří mezi neinvazivní léčebné metody, při nichž dochází k selektivnímu poškození tumorové tkáně, při čemž zdravá tkáň zůstává nepoškozena. Na rozdíl od chemoterapie nebo ozařování lze PDT i několikrát opakovat. Její použití je však omezeno. Nelze používat k léčbě široce rozšířených metastáz, neboť se jedná o lokální použití (Hopper 2000, National cancer institute – Photodynamic therapy).

## 4.1 Historie fotodynamické terapie

O léčebných účincích světla se vědělo už před několika tisíci lety. V té době byla fototerapie (k léčbě je použito pouze světlo) používána k léčbě kožních nemocí (např. v Číně, Egyptě nebo Indii). Také fotochemoterapie, při které je kromě světla nutné i podání látky se senzibilizačními účinky (například PS), byla využívána už starými Egyptany. Ti používali perorálně (p. o.) podávané rostliny s obsahem psoralenů jako PS a sluneční světlo při léčbě vitiliga (Allison a Sibata 2010).

Historie klasické PDT sahá až na přelom 19. a 20. století, kdy dánský lékař Niels Finsen popsal, že použití červeného světla brání praskání neštovicových postul. V roce 1903 obdržel Nobelovu cenu za jeho další objev: použití ultrafialového záření dokáže vyléčit kožní formu tuberkulózy.

V roce 1900 Oscar Raab, student medicíny, poprvé pozoroval vliv fotochemoterapie na buněčnou smrt. Zjistil, že působením světla na akridinovou červeň dojde k usmrcení pozorovaných prvoků. Zjistilo se také, že nádorová tkáň mnohem více zadržuje fluorescenční barvivo než tkáň zdravá. Roku 1903 byl použit eosin a bílé světlo k léčbě kožního tumoru profesorem von Tappeinerem a dermatologem Jesionekem. Později přišel von Tappeiner na to, že je pro účinnost této léčby nutný také kyslík a v roce 1907 byl poprvé použit výraz „fotodynamický efekt“ (Ackroyd a kol 2001, Allison a Sibata 2010, Zimčík a Miletín 2004). Předmětem studie byly a jsou také PS. Nejstudovanějšími jsou dodnes porfyriny, které byly popsány už v polovině 19. století. V roce 1911 Hausmann zjistil, že použití hematoporfyrinu a světla zabíjí červené krvinky a některé prvoky. V roce 1955 byl připraven derivát hematoporfyrinu (HpD), který se

vyznačoval mnohem vyšší účinností a později se stal základem pro dnes nejpoužívanější PS (Photofrin®).

Prvního úspěchu při použití HpD u lidí dosáhl Kelly, který vyléčil pacienta s nádorem močového měchýře. Další experiment provedl Dougherty. Jednalo se o první rozsáhlejší studii, kdy 25 pacientů s kožními nádory podstoupilo léčbu pomocí HpD a světla. Z celkem 113 kožních ložisek se 98 podařilo vyléčit úplně, 13 vykazovalo jen částečnou odpověď na léčbu a 2 ložiska byly zcela rezistentní. Dougherty je označován jako otec PDT (Zimčík a Miletín 2004).

## 4.2 Mechanismus fotodynamické reakce

Základem metody je systémová či lokální aplikace fotodynamicky aktivní látky, tedy PS a jeho následné ozáření světlem vhodné vlnové délky, které odpovídá absorpčnímu maximu fotosenzitizéru. Nejčastěji jde o červenou část viditelného spektra popř. blízkou infračervenou oblast – světlo z této oblasti prochází nejhluběji do tkáně (Agostinis a kol 2011).

Mechanismus fotoreakce je založen na absorpci světla fotosenzitizérem, který se tak dostává do vysokoenergetického tripletového stavu, významného pro účinný průběh PDT.

Po absorpci světla je PS nejprve excitován do svého prvního excitovaného stavu. Tento stav však trvá velmi krátkou dobu a nedokáže účinně reagovat s okolními molekulami. Předpokládá se, že tento stav jen zanedbatelně ovlivňuje PDT. Z tohoto energetického stavu se PS může dostat několika způsoby. Excitovaný PS ztrácí svou energii buď zářivým přechodem do základního stavu (fluorescence) nebo excituje tzv. vnitřní konverzí do tripletového stavu, který je pro PDT nejdůležitější. Tento stav již trvá dostatečně dlouho na to, aby excitovaný PS dokázal reagovat s okolními molekulami. Z tohoto stavu se PS dostává buď do základního stavu vyzářením fotonu ve formě fosforescence, nebo je jeho energie předána jiné molekule (Macdonald a Dougherty 2001, Yano a kol 2011, Zimčík a Miletín 2004).

Rozlišujeme dva typy fotoreakcí.

Ve fotoreakci typu I, probíhající za anaerobních podmínek, dochází k oddělení atomu vodíku nebo přenosu elektronu za vzniku volných radikálů či radikálových iontů. Vznikají tak oxidované substráty a redukované PS. Substráty pak mohou okamžitě začít

reagovat s molekulárním kyslíkem, při čemž dochází k oxidativnímu poškození buňky. Mimo jiné vznikají při této reakci volné kyslíkové radikály (ROS) způsobující další destrukci buněčných struktur. Reakce typu I je závislá na koncentraci cílových substrátů (Macdonald a Dougherty 2001, Yano a kol 2011).

Při reakci typu II přenáší excitovaný tripletový stav PS svou energii přímo na  $^3\text{O}_2$ , čímž dochází k jeho přímé přeměně na  $^1\text{O}_2$ . Molekulární kyslík je výjimečný tím, že jeho původní stav je triplet. Energie potřebná pro přechod z tripletového do singletového stavu je  $22 \text{ kcal mol}^{-1}$ . V singletovém stavu je 1000x reaktivnější než v původním stavu a pro buňku se stává toxickým. Vznikající molekuly kyslíku jsou v této metodě považovány za nejdůležitější cytotoxické agens. Okamžitě reagují s mnoha organickými substráty a následkem je oxidativní poškození buněčných struktur, především peroxidace a alterace proteinů vedoucí k cytolýze buňky. Tento typ reakce je na rozdíl od typu I závislý na aktuální koncentraci kyslíku a je obecně přijímáno, že většina PS reaguje právě tímto typem fotoreakce (Allison a Sibata 2010, Macdonald a Dougherty 2001, Yano a kol 2011).

### 4.3 Kyslík ve fotodynamické terapii

Jak už bylo výše popsáno, kyslík se z tripletového stavu přeměňuje na kyslík singletový. V této formě je kyslík mnohonásobně reaktivnější a stává se cytotoxickým. Přeměna nastává při obrácení spinu jednoho z nejvzdálenějších elektronů od jádra. Za normálních okolností má kyslík dva nepárové elektrony sídlící odděleně v nejvzdálenějších antivazebných orbitalech. Pokud na elektrony nepůsobí magnetické pole, elektronová konfigurace není rozpoznatelná. Když však elektrony vystavíme magnetickému působení, jejich spiny mohou zaujmout jednu ze tří možných elektronových konfigurací. Oba spiny mají stejnou kvantovou složku (orientaci) v jednom ze dvou „směrů“ (ve vztahu k působení magnetického pole), nebo je jejich orientace opačná. Díky těmto třem možným stavům se základní stav kyslíku nazývá tripletový (Macdonald a Dougherty 2001).

Výrazná reaktivita kyslíku v singletovém stavu je způsobena párováním dvou elektronů do jednoho 2p antivazebného orbitalu. V základním stavu jsou nejvzdálenější elektrony rozděleny podle Hundova pravidla do  $P_x$  a  $P_y$  antivazebných orbitalů. Vzhledem k tomu, že jsou orbitaly degenerovány a elektrony mají vyrovnané spiny, kvantová čísla elektronů jsou identická, a tudíž jsou nuceny obsadit samostatné orbitaly.

Během interakce elektronů s excitovaným PS dochází k obrácení jednoho spinu, čímž se kvantové číslo elektronu stává jedinečné. Toto převrácení umožňuje spárovat dva obrácené spiny do antivazebného orbitalu, který destabilizuje molekulu kyslíku.

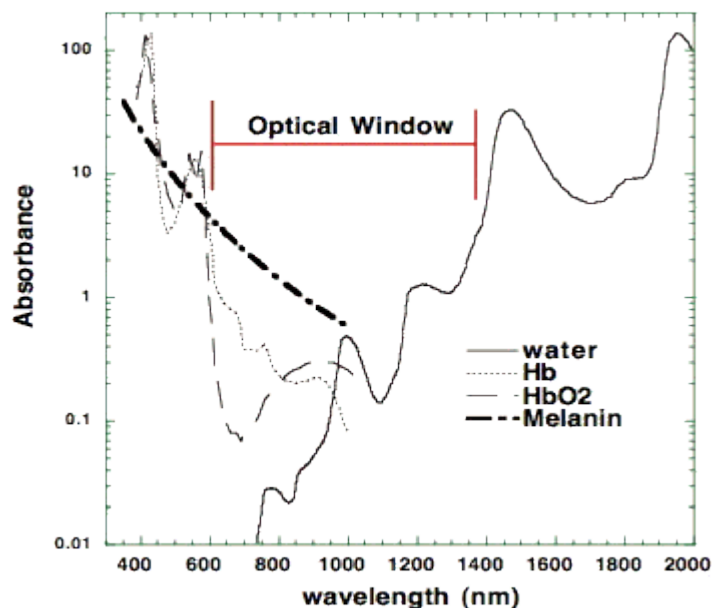
Reaktivita  $^1\text{O}_2$  je tak vysoká, že se jeho životnost pohybuje v organických rozpouštědlech v rozmezí 10 – 100 ms. Ve vodném prostředí je doba existence snížena asi na 2 ms, jelikož energie vazby kyslíku a vodíku v molekulách vody, je téměř totožná s energií excitovaného stavu  $^1\text{O}_2$ . Energie se tak díky protažení a vibrování molekul vody rozptýlí ve formě tepla (Macdonald a Dougherty 2001, Zimčík a Miletín 2004).

Díky tomu, že  $^1\text{O}_2$  reaguje velice rychle, je oxidativní poškození indukované fotodynamickou terapií lokalizováno jen v takovém rozmezí, které nepřesáhne tloušťku buněčné membrány, čímž je zajištěno nenarušování zdravé okolní tkáně (Josefsen a Boyle 2008).

#### **4.4 Světlo ve fotodynamické terapii**

Výběr vhodného zdroje světla by měl být založen především na fotofyzikálních vlastnostech PS, charakteru nemoci (lokalizace, velikost, přístupnost a tkáňová charakteristika), na hloubce penetrace a nákladech. Zvolená vlnová délka světla musí být shodná s hlavním absorpčním pásem vybraného PS. Optimální vlnová délka by měla poskytovat maximální výtěžek  $^1\text{O}_2$  v maximální hloubce (Agostinis a kol 2011, Mitton a Ackroyd 2008).

Bylo prokázáno, že nejhluběji do tkáně proniká světlo o vlnové délce mezi 650 a 750 nm, což odpovídá červenému světlu. Při použití této vlnové délky je hloubka průniku do tkáně přibližně 1 cm. Se snižující (nebo naopak zvyšující) se vlnovou délkou klesá hloubka penetrace. Při použití světla o vlnové délce do 600 nm dochází k pohlcování světla hemoglobinem, oxyhemoglobinem a melaninem. Světlo o vlnové délce nad 1300 nm je absorbováno vodou. V tomto intervalu se nachází tzv. optické okno tkání, ve kterém světlo proniká do tkáně až několik centimetrů. Hloubka průniku světla tedy závisí na vlnové délce světla, ale také na optických vlastnostech tkáně (Agostinis a kol 2011, Castano a kol 2004).



*Obrázek 1: Optické okno ve tkáni (Castano a kol 2004)*

První použitý světelný zdroj pro fotodynamickou terapii byla tradiční žárovka emitující nesouvislé záření v širokém spektru vlnových délek, která na svém výstupu obsahovala filtry. Pomocí nich lze získat spektrum vhodných vlnových délek, díky čemuž mohou být vhodným zdrojem světla pro více druhů PS. V praxi se nejvíce používají xenovové lampy. Nevýhodou je však významné zastoupení tepelného záření a obtížný vypočet dávky světla. Jejich výhodou je to, že se dají snadno použít, jsou dostupné, bezpečné a relativně levné. Nejvíce se využívají v dermatologii (Ackroyd a kol 2001, Mitton a Ackroyd 2008).

Nejběžnějšími, nejvíce používanými, světelnými zdroji jsou však lasery, které produkují souvislé, monochromatické záření, které může být dopraveno optickým vláknem do špatně dostupných míst v těle. Umožňuje také snadné vypočítání potřebných fotofyzikálních veličin. Lze použít různé typy laserů: lasery obsahující barvivo, lasery s parami kovů, diodové lasery a další. Nejpoužívanějším je laser s argonovým barvivem. Široké rozšíření je dáno schopností změny vlnové délky, čímž získáváme možnost použití různých PS. Bohužel se jedná o velké systémy, které jsou poměrně drahé, vyžadují externí chladicí jednotku, samostatný zdroj napájení a náročnou údržbu. Postupně byly tyto lasery nahrazeny diodovými lasery, které jsou malé, cenově dostupnější, dají se jednoduše instalovat, mají automaticky nastavitelnou dozimetrii a kalibraci, nevyžadují externí

chladičící systém, jsou spolehlivé a vykazují delší provozní životnost. Nevýhodou je však emise pouze světla o určité vlnové délce, což vyžaduje použití pouze s některými PS. Tyto systémy mají licenci pro použití v rámci Evropy (Ackroyd a kol 2001, Agostinis a kol 2011).

Celková klinická účinnost závisí na komplexní dozimetrii: na celkové dávce světla, na době expozice světla a na charakteru světla (jednotné, frakcionované či metronomické (Agostinis a kol 2011)).

## **4.5 Nádorové onemocnění**

Nádorová transformace se může objevit téměř kdekoli v těle. Za normálních okolností buňky v lidském těle rostou a dělí se v souladu s potřebami okolní tkáně – vznik a zánik buněk je v určité rovnováze. Během maligní transformace buněk dochází k narušení této rovnováhy. Nádorové onemocnění je systémová odpověď organismu v důsledku vývoje nádoru (National cancer institute – What is cancer).

### **4.5.1 Rozdělení nádorů**

Primárně se nádory dělí na maligní a benigní. Benigní (nezhoubné) nádory rostou expanzivně, což znamená, že nijak nenarušují nebo nedeštruuji okolní tkáň. Většinou rostou pomalu, jsou jasně ohraničené a homologní. Na své okolí působí většinou jen tlakem. Často tvoří pouzdra, což je velká výhoda při jejich odstranění. Bohužel i tento typ nádorů může na organismus působit nepříznivě. Umístěním v blízkosti CNS, jejich endokrinní aktivitou či jiným mechanismem vlastní těmto nádorům (National cancer institute – What is cancer, Rejthar a Vojtěšek 2002).

Maligní (zhoubné) nádory na rozdíl od benigních rostou invazivně a rychle. Jejich agresivní růst narušuje okolní tkáňové struktury, dochází k jejich prorůstání do tkání obklopující nádor. Tyto nádory jsou také schopné metastazovat do jiných částí těla. Buňky těchto nádorů se liší od tkáně, ve které rostou, mohou měnit nebo narušovat funkci původní tkáně. Jejich tvar je neohraničený, což často způsobuje obtížné chirurgické odstranění. Maligní nádory spotřebovávají mnoho energie, proto lidé s touto nemocí zpravidla trpí únavou a výrazným úbytkem na váze.

Podle histogenetického hlediska lze nádory rozdělit na mezenchymové, epiteliální, neuroektodermové, germinální a teratomy a nádory smíšené.

Mezenchymové nádory vznikají z pojivové tkáně. Jejich specifikem je většinou neohraničený tvar, a to i v benigním typu. Nádory epiteliální vycházejí z epitelů. Obecně se jim říká karcinomy a snadno u nich rozlišíme stroma od parenchymu. Tyto nádory si v mnoha případech zachovávají svoji epiteliální funkci. Neuroektodermové nádory vznikají z neuroektodermových buněk a je u nich velmi složité histogenetické zařazení. Za smíšené nádory jsou považovány takové nádory, jejichž buňky jsou odvozeny od různých histogeneticky charakterizovaných tkání nebo tyto buňky pochází z jednoho typu tkáně, ale liší se diferenciací a specializací. Smíšené nádory mohou vznikat ze dvou různých epitelů, z mezenchymu a epitelu nebo z mezenchymu s různým diferenciačním směrem buněk. Germinální nádory patří do rozsáhlé skupiny nádorů vznikající buď z totipotentní nebo multipotentní kmenové buňky. Jedná se tedy o nádory z pohlavních buněk a z buněk tkání časných stádií vývoje embrya (Rejthar a Vojtěšek 2002).

#### **4.5.2 Maligní transformace buňky**

Nádor je patologická změna organismu charakteristická nekoordinovanou proliferací buněčné tkáňové hmoty. Jedná se o geneticky podmíněnou chorobu, při které dochází ke změně genů zodpovědných za řízení buněčných procesů – např. rychlost růstu, či buněčné dělení. V nádorových buňkách tedy dochází k zásahu na úrovni DNA. Tyto změny mohou být dědičné, mohou vznikat během života díky chybě přepisu DNA nebo vznikají při poškození DNA díky expozici karcinogenních faktorů. Proces karcinogeneze je u každého postiženého jedince unikátní (National Cancer institute – What is cancer, Rejthar a Vojtěšek 2002).

Tyto genetické mutace mají tendenci ovlivňovat tři hlavní typy genů – protoonkogeny, tumor supresorové geny a geny pro reparaci DNA. Protoonkogeny jsou za normálních podmínek odpovědné za normální růst a dělení buněk díky působení např. růstových faktorů a kináz. Pokud však dojde k jejich mutaci, nebo zvýšení jejich aktivity, stávají se onkogeny. Ty pak způsobují nekontrolovanou proliferaci bez závislosti na růstových stimulačních signálech. Tumor supresorové geny normálně negativní regulací kontrolují růst a proliferaci buněk, nebo naopak pozitivně regulují programovanou buněčnou smrt. Vlivem mutací dochází k narušení jejich funkce a buňce nic nebrání k její transformaci na buňku nádorovou (National cancer institute – What is cancer).

Buňka je postupně vlivem mutací transformována. Dochází ke změně rychlosti a typu proliferace. Podle studií mají všechny buňky týkající se jednoho nádoru

monoklonální původ, což znamená, že všechny vznikly z jedné jediné transformované buňky a mají alespoň jeden společný znak. Mutace jednotlivých buněk v rámci jednoho nádoru však může být odlišná (Rejthar a Vojtěšek 2002).

### **4.5.3 Metastázování**

Velmi častou vlastností tumorů je schopnost tvorby dceřiných nádorů v jiných částech těla – tzv. metastázování. Nově vzniklé ložisko je tvořeno stejným typem buněk jako ložisko původní. Při vzniku metastáz se musí nádorové buňky oddělit od svého základu, penetrovat do krevního řečiště, dutin či lymfatického systému a v určitém orgánu řečiště zase opustit a vytvořit novou kolonii (National cancer institute – Photodynamic therapy, Rejthar a Vojtěšek 2002, Silbernagl a Lang 2012).

Aby mohlo dojít k oddělení nádorových buněk od původního buněčného svazku, musí mít nádorová tkáň schopnost migrace a rozrušení hranic tkáně. Toho je dosahováno pomocí proteolytických enzymů nebo zeslabení exprese či účinku jejich inhibitorů (Silbernagl a Lang 2012).

Penetrace nádorových buněk do krevního řečiště či lymfatického systému nemusí nutně znamenat vytvoření metastáz. Ty vznikají z méně než 0,1 % nádorových buněk kolujících v krvi nebo lymfatickém systému. Důležitým faktorem pro rozvoj metastatického procesu je schopnost buněk angiogeneze. Tu má pouze 2,5 % buněk uvolněných do krve či lymfy. Ovšem i tumorové buňky s plně vyvinutou angiogenezí jsou v krvi či lymfě rozpoznávány a ničeny specifickými i nespecifickými imunitními složkami. Zda bude metastázování v krvi úspěšné či ne rozhodují z velké části také trombocyty, které s tumorovými buňkami vytváří mikroemboly. Ty jsou tak chráněny před imunitními a mechanickými účinky, čímž nedochází k jejich odstranění. Navíc takto vzniklé komplexy destiček a buněk zvyšují adhezi k cévnímu endotelu a tím i prostupu přes cévní stěnu (Rejthar a Vojtěšek 2002, Silbernagl a Lang 2012).

Přestupem přes cévní stěnu se nádorové buňky dostávají do míst, kde zakládají dceřině ložisko rakoviny. Většinou je takto nově vznikající ložisko lokalizováno v blízkosti kapilár, odkud buňky prostupují. Úspěšnost vzniku a vývoje sekundárního nádoru závisí z velké části na schopnosti novotvorby cév nádoru. Dále na přítomnosti enzymů s kolagenázovou aktivitou, ale i na metabolismu dané tkáně a dalších faktorech. Vývoj metastáz je stejný nebo podobný primárnímu nádoru, ale závisí na množství dodaných živin a prokrvení. Může však dojít k vyšší diferenciaci buněk nového ložiska.



V některých případech může metastáza zůstat v tak zvaném dřímajícím stavu. Proliferace začíná až po několika měsících či letech (Rejthar a Vojtěšek 2002, Silbernagl a Lang 2012).

#### 4.5.4 Karcinogenní faktory

Karcinogenní faktory můžeme rozlišit na chemické, fyzikální a biologické, dle jiného kritéria pak na karcinogenní látky přímé a nepřímé (Šípek 2014).

Mezi chemické látky s přímým karcinogenním účinkem řadíme alkylační a acylační látky, které na DNA působí přímo bez dalších chemických přeměn. Látky s nepřímým účinkem se karcinogenními stávají až po jejich biotransformaci v organismu (hovoříme o tzv. prokarcinogenech). Patří sem acylační látky, aromatické uhlovodíky a aminy, nitrozaminy, produkty rostlin a plísní a další jako například nikl, kobalt, chrom, azbest, insekticidy a fungicidy.

Nejnámějším fyzikálním faktorem je ionizující záření. Všechny typy ionizujícího záření vykazují onkogenní působení. Riziko onemocnění do určité míry lineárně stoupá s dávkou ozáření. Různé tkáně lidského těla jsou jinak citlivé k ionizujícímu záření. Nejnáchylnější je lymfatická tkáň a u mladých lidí štítná žláza; nejméně naopak kosti, kůže a tkáň GIT. Buňky jsou nepoměrně citlivější k působení ionizujícího záření, pokud se nacházejí ve fázi dělení (Rejthar a Vojtěšek 2002, Šípek 2014).

K nevratnému genetickému poškození nutnému k maligní transformaci buňky dochází vznikem chromozomálních mutací či aberací, a to dvěma možnými způsoby:

- 1) Energie záření je rozložena v buňce zcela náhodně, a způsobuje excitaci molekul vyvolávající chemické změny v buňce, především tvorbu peroxidů. Tyto nově vzniklé reaktivní molekuly následně interagují s DNA, čímž dochází k jejímu poškození.
- 2) Přímou absorpcí energie všech druhů ionizujícího záření molekulami DNA, vyvolávající chromozomální aberace či mutace.

Dalším fyzikálním faktorem způsobující nádorové onemocnění je ultrafialové záření (UV), které působí převážně na kůži. Existuje více typů poškození DNA. Nejčastěji však DNA svými bázemi absorbuje UV záření a vznikají tzv. pyrimidinové

dimery – velmi často typu TT (thyminové dimery). Dalším poškozením mohou být zlomy DNA nebo vzniklé fotoproducty. Výskyt se zvyšuje u lidí se zvýšenou expozicí slunečnímu záření. Nejúčinnější je záření v oblasti vlnové délky 280-320 nm (Radiobiologie, Rejthar a Vojtěšek 2002).

V dnešní době mezi biologické karcinogenní faktory patří převážně onkogenní viry, které můžeme podle jejich genomu dělit na RNA onkogenní viry a DNA onkogenní viry. Mezi DNA viry patří HPV, EBV, HBV a KSHV. Ty napadají buňku a začleňují se do jejího genomu, při čemž způsobují její přechod z  $G_0$  a  $G_1$  fáze do S fáze mitózy a buňka se začíná nekontrolovatelně dělit. Dochází tak k replikaci hostitelské DNA se začleněným genomem viru, což způsobuje zmnožení viru a následnou lýzu buňky. RNA viry na rozdíl od DNA virů buňku nelyzují, ale před integrací svého genomu do hostitelské DNA musí svou RNA přepsat do DNA pomocí enzymu *reverzní transkriptáza*. Tím opět dochází k replikaci buněčné DNA společně s replikací včleněné kopie virového genomu, vznikají virové částice a vir se množí. Druhým způsobem přenosu virové nákazy je začlenění virového genomu, který již kóduje kromě virových částic a *reverzní transkriptázy* i maligní transformaci získanou původně od somatické buňky. Příkladem může být například souvislost HPV s karcinomem děložního čípku (Radiobiologie, Rejthar a Vojtěšek 2002).

Stále nedořešená je souvislost karcinogeneze s bakterií žijící v žaludku – *Helicobacter pylori*, způsobující chronické onemocnění žaludku. Přestože nebyla dokázána přímá souvislost s karcinomem žaludku, u pacientů s tímto nádorovým onemocněním je tato bakterie nalézána velmi často. Na druhou stranu, prokázanou souvislost má helikobakter s MALT-B-lymfomem žaludeční sliznice, kde je nalézán téměř ve všech případech (Rejthar a Vojtěšek 2002).

## 5 Fotosenzitizéry

### 5.1 Ideální fotosenzitizér

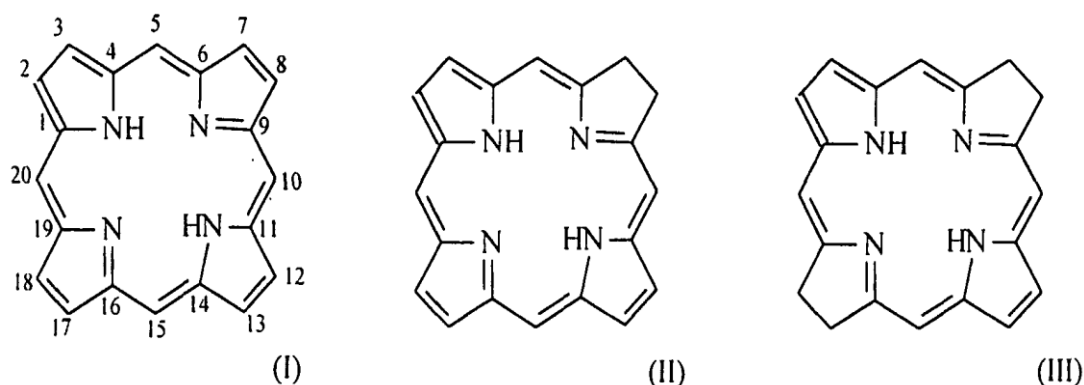
Hlavním rysem ideálního PS je schopnost akumulovat se přednostně v nádorové tkáni. Takováto látka by sama o sobě neměla vykazovat cytotoxické účinky, a měla by se rychle vyplavovat ze zdravé tkáně a orgánů, čímž se minimalizují možné nežádoucí fotosenzitivní reakce. Ideální PS by měla být dobře charakterizovaná čistá sloučenina, která by měla být stabilní při skladování s možností se provádět analýzu kontroly kvality s co nejnižšími náklady. Dále by PS měl mít vysoké absorpční maximum v oblasti mezi 600 a 800 nm (červená až blízká infračervená oblast) PS by tedy měl mít vysoké výtěžky  $^1\text{O}_2$  popř. ostatních ROS (Agostinis a kol 2011, Josefsen a Boyle 2008).

Obecnou vlastností PS je tzv. „photobleaching“. Jedná se o postupné snižování až úplnou ztrátu absorpce nebo emise světla. Důvodem je narušení chromoforu, které je důsledkem chemických reakcí vzniklých v PS díky absorpci aktivujícího záření. Existují dva typy těchto chemických změn, které jsou nevratné. Fotomodifikace (změny v chromoforu) a „pravý photobleaching“ (zánik chromoforu, resp. fluoroforu). Během fotodynamické terapie lze využít především „pravý photobleaching“. Výhodou je, že daný fotosenzitizér již neabsorbuje světlo, a tak nemůže vykazovat negativní fotocytotoxické účinky.

V neposlední řadě záleží také na ceně fotosenzitizéru a jeho dostupnosti (Castano a kol 2004, Diaspro a kol 2006).

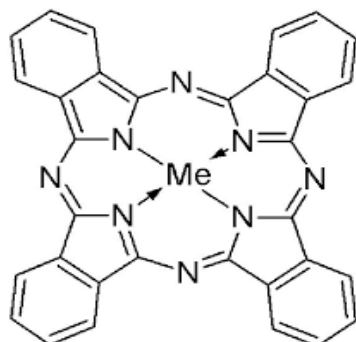
### 5.2 Strukturní rozdělení

Fotosenzitizéry lze podle strukturálního hlediska rozdělit na dvě skupiny. Mezi porfyriny, které obsahují zcela konjugované tetrapyroly, patří hem. Absorpce světla probíhá při vlnové délce maxima kolem 630 nm (Castano a kol 2004). Tetrapyroly s jednou redukovanou dvojnou vazbou se nazývají chloriny. Redukce způsobuje posun maxima absorpce k 650 – 690 nm. Ještě větší posun vlnové délky maxima způsobují dvě zredukované dvojně vazby. Tyto látky se nazývají bakteriochloriny a absorbují při vlnové délce 740 – 800 nm (Castano a kol 2004, Zimčík a Miletín 2009).



**Obrázek 2** Základní strukturní typy fotosenzitizérů: I – porfyrin, II – chlorin, III – bakteriochlorin

Do druhé skupiny patří ftalocyaniny a naftalocyaniny. Vlnová délka maxima absorpce se pohybuje nad 650 nm. Ftalocyaniny stejně jako porfyrin obsahuje čtyři pyrolové jednotky. Navíc však obsahuje čtyři isoindoly spojené dusíkem. Problémem při použití těchto látek je jejich špatná agregace a rozpustnost (Castano a kol 2004).



**Obrázek 3** Struktura ftalocyaninů. Me – centrálně vázaný kovový iont

### 5.3 Porfyriny, chloriny a bakteriochloriny

Mezi nejběžněji používané fotosenzitizéry řadíme už zmiňované porfyriny, chloriny a bakteriochloriny. Patří mezi nejvýznamnější pro in vivo fotodynamickou terapii (Yano a kol 2011, Zimčík a Miletín 2004b).

Obecně mají molekuly všech těchto látek planárně-aromatickou strukturu složenou ze symetricky uspořádaných pyrolových jednotek propojených methylovými můstky. Na rozdíl od porfyrinů, chlorinů a bakteriochlorinů, které se skládají ze čtyř

pyrolových jednotek, obsahují texafyriny pouze tři pyrolové jednotky a ftalocyaniny jsou spojeny dusíkovými můstky. Ovšem i jejich molekuly jsou planárně-aromatické a mají podobné fotofyzikální vlastnosti jako porfyriny, chloriny a bakteriochloriny.

Díky rozsáhlému aromatickému systému absorbují tyto molekuly světlo ve viditelné oblasti spektra. Všechny tři látky mají absorpční maxima v červené oblasti elektromagnetického spektra, a proto mohou účinně excitovat kyslík, a tím vytvářet singletový kyslík. Červené oblasti spektra umožňují světlu pronikat hlouběji do tkání.

Látky podobné porfyrinům absorbují kolem vlnové délky 400 nm. Tato vlnová délka není vhodná pro fotodynamickou terapii, neboť modré světlo není schopné pronikat hluboko do tkání. K léčbě se používá rozmezí 600-800 nm. Zatímco porfyriny maximálně absorbují při vlnové délce 630 nm, chloriny při 650 nm a bakteriochloriny mají absorpční maximum okolo 740 nm (Macdonald a Dougherty 2001).

## 5.4 Typy fotosenzitizérů

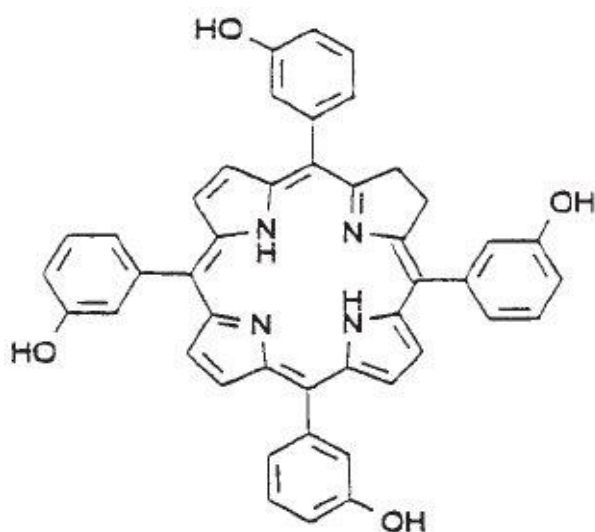
V současné době můžeme fotosenzitizéry rozdělit do tří generací. Do první generace řadíme Photofrin<sup>®</sup> – jedná se o derivát hematoporfyrinu (HpD). Tato látka však nesplňuje požadavky ideálního fotosenzitizéru. Díky jeho nežádoucím účinkům vznikaly látky tzv. druhé generace, kam mimo struktur vycházejících z porfyrinů řadíme i látky odvozené od jiných chemických struktur. Druhá generace PS začala vznikat v 80. letech minulého století. Mezi třetí generaci patří všechny PS druhé generace spojené s biomolekulami (protilátky, cholesterol, liposomy apod.) umožňující lepší distribuci v těle a specifitější akumulaci v nádorové tkáni (Allison a Sibata 2010, Macdonald a Dougherty 2001).

### 5.4.1 Fotosenzitizéry první generace

#### 5.4.1.1.1 Photofrin<sup>®</sup>

První klinicky použitý PS pro PDT nádorových onemocnění byla ve vodě rozpustná směs porfyrinů, tzv. derivát hematoporfyrinu (HpD). I dnes je to nejpoužívanější PS a stále je předmětem studií. HpD lze poměrně snadno získat synteticky, a to z hematoporfyrinu izolovaného z hemu. Díky bromovodíkové kyselině dochází v prostředí s kyselinou octovou k odstranění železa z hemu. Hydrolytickou úpravou vzniká vlastní hematoporfyrin. Působením kyseliny sírové a octové a následnou

neutralizací pomocí hydroxidu sodného dochází ke vzniku směsi dimerů a oligomerů. Jednotky směsi jsou navzájem vázány éterovými nebo esterovými vazbami. Vyčištěním této směsi vznikl porfimer sodný, později známý jako Photofrin<sup>®</sup>. Takto čištěná směs, skládající se z jedné až devíti porfyrinových jednotek, se používá v klinické praxi. Photofrin<sup>®</sup> lze aktivovat světlem o vlnové délce 630 nm (tato vlnová délka proniká ve tkáni asi do hloubky 5 mm) (Agostinis a kol 2011, Yano a kol 2011, Zimčík a Miletín 2004b).



**Obrázek 4** *Struktura základní jednotky Photofrinu*

Photofrin<sup>®</sup> v používaných dávkách není toxický a nevykazuje ani karcinogenní či mutagenní vlastnosti. Výhodou oproti klasickým metodám (chemoterapie nebo ozařování) je absence pro pacienty nepříjemných vedlejších účinků, jako je např. nevolnost. Proto mohou být lidé léčení opakovaně podle potřeby. Nevýhodou je jeho akumulace v kůži, což může způsobovat nežádoucí fotosenzitivní reakce po expozici slunečního záření nebo jiného silného zdroje světla. Po léčbě se doporučuje používat ochranný oděv a sluneční brýle.

Photofrin<sup>®</sup> již prošel mnohými studiemi. V roce 1995 byla dokončena třetí fáze klinických studií v léčbě rakoviny jícnu. Dobrých výsledků bylo dosaženo také ve studiích pro léčbu rakoviny nemalobuněčných nádorů plic. Tito pacienti mají vysoké riziko recidivujících nádorů a PDT umožňuje opakované použití bez závažné poruchy plicní funkce. Byla provedena studie se 13 pacienty s plicním nádorem menším než 2 cm.

Po prvním ošetření vykazovalo 11 nádorů kompletní odezvu na léčbu a 77% nádorů nevykazovalo recidivu za 7 – 49 měsíců (Dougherty a kol 1998).

Poprvé byl Photofrin<sup>®</sup> klinicky použit v Kanadě ve Vancouveru roku 1993 k léčbě rakoviny močového měchýře. Tehdy byl vyroben firmou QLT PhotoTherapeutics, roku 2000 však veškerá práva k Photofrinu<sup>®</sup> koupila společnost AxcanPharma v Montrealu, která jej nyní prodává (Allison a Sibata 2010, Wilson 2002, Zimčík a Miletín 2004b).

V mnoha zemích byl Photofrin<sup>®</sup> schválen pro klinické použití při léčbě jak prekancerózních stavů (cervikální dysplazie, Barretův jícen) tak časných i pozdních fází rakoviny plic, močového měchýře, jícnu, žaludku a cervixu (Hopper 2000, Zimčík a Miletín 2004b). Bohužel bylo zjištěno, že Photofrin<sup>®</sup> se velmi liší od ideálního PS. Mezi jeho nedostatky patří především absorpce při nízkých vlnových délkách (630 nm), což způsobuje nedostatečnou penetraci tkání. Dále fakt, že se jedná o směs látek s nejasným složením a strukturou. Podstatným nedostatkem je poměrně dlouhé zadržování v kůži, což vede k prodloužení kožní fotosenzitivity. Ta může přetrvávat ještě 10 týdnů po ukončení léčby (Agostinis a kol 2011).

V dnešní době je tento PS používán pod firemními názvy Photofrin<sup>®</sup> (USA), Photosan<sup>®</sup> (Německo), Photocarcinorin<sup>®</sup> (Čína), Photogem<sup>®</sup> (Rusko) a Haematodrex<sup>®</sup> (Bulharsko). V České republice ho můžeme nalézt pod názvy PhotoBArr<sup>®</sup> a Photofrin<sup>®</sup> (Photofrin.com).

## 5.4.2 Fotosenzitizéry druhé generace

Jelikož HpD nemá zcela ideální vlastnosti pro použití v PDT, vědci se snažili nalézt látky vhodnější k tomuto použití. Vývoj PS druhé generace, navržených pro minimalizaci nedostatků první generace, byl klíčem k rozvoji PDT (Josefsen a Boyle 2008). Výhodou těchto látek je delší aktivační vlnová délka, kratší doba fotosenzitivity, vyšší výtěžek singletového kyslíku a větší selektivita (Dougherty a kol 1998).

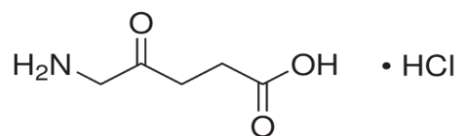
Sloučeniny této generace jsou odvozené především od porfyrinů, chlorinů a bakteriochlorinů, benzoporfyrinů, ftalocyaninů a naftalocyaninů, texapyrinů a pheophorbidů. Radíme sem např. tyto PS: kyselinu 5-aminolevulovou (ALA) a její estery, Temoporfin, Verteporfin, Rostaporfin, Talaporfin, HPPH, Fotolon, Radachlorin, Fotoditazin, křemičitý ftalocyanin (Pc4), Padoporfin a Motexafin Lutetium. Ovšem jen málo jich bylo zatím schváleno pro klinické použití (Dougherty a kol 1998, Josefsen a Boyle 2008, Macdonald a Dougherty 2001).

### 5.4.2.1 PORFYRINY

#### 5.4.2.1.1 *Kyselina 5-aminolevulová*

Pro léčbu především rakoviny kůže a povrchových lézí je klinicky používáno proléčivo 5-aminolevulová kyselina. ALA sama o sobě není fotodynamicky aktivní látkou, ale je klíčovým prekurzorem v biosyntéze přirozeně se vyskytujících porfyrinů a hemu. Hem vzniká v každé buňce těla produkující energii a je základním prvkem struktury hemoglobinu, myoglobinu a dalších hemových proteinů (Allison a Sibata 2010, Josefsen a Boyle 2008). ALA využívá této biosyntetické dráhy ke své přeměně na endogenní protoporfyrin IX (prekuzor hemu), což je a účinný PS. Syntéza je regulována mj. zpětnovazebnou inhibicí ferochelatázy produktem – hemem. Tento enzym je zodpovědný za inkorporování centrálního železa do struktury protoporfyrinu IX. Pokud uměle přidáme nadbytek exogenní ALA do buněk, buňky začnou produkovat nadbytek protoporfyrinu IX. Přebytek ALA zabraňuje, díky omezené kapacitě přenašečů a dostatku hemu, navázání železa do protoporfyrinu IX. Protoporfyrin IX se proto hromadí v buňkách, které se tak stávají fotosenzitivní. Nádorová tkáň produkuje po aplikaci ALA mnohem větší množství protoporfyrinu IX než okolní fyziologická tkáň, což mj. napomáhá také k detekci díky rozdílným koncentracím protoporfyrinu IX v těchto tkáních (Allen a kol 2011, Josefsen a Boyle 2008, Zimčík a Miletín 2004b).

Aplikace ALA se může provádět p. o., i. v. nebo lokálně. Pokud je látka aplikována lokálně, fotosenzitivita je omezena pouze na místo aplikace, v jiných případech přetrvává fotosenzitivita většinou 48 hodin. Při p. o. podání byly zaznamenány gastrointestinální potíže. ALA absorbuje záření v širokém rozmezí vlnových délek. V praxi se používá vlnová délka 630 nm, ale největší produkce singletového kyslíku a rychlost léčby je způsobena světlem o krátké vlnové délce, tedy světlem modré barvy (410 nm), kdy však tento PS může být používán pouze k léčbě nádorové tkáně uložené v hloubce maximálně 1 mm pod povrchem (Allison a Sibata 2010).



*Obrázek 5 Struktura ALA ve formě hydrochloridu*



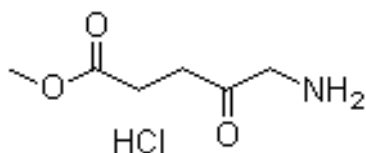
Výhodami ALA, především po i. v. podání, je v porovnání s ostatními i. v. podanými látkami rychlejší akumulace v nádorové tkáni i rychlejší vylučování z těla, což snižuje dobu fotosenzitivity pacienta (Josefsen a Boyle 2008).

ALA prošla předběžnými studii léčeni kožních malignit s dosažením celosvětového úspěchu. V poslední době se ALA úspěšně používá pro léčbu aktinické keratózy a pro diagnózu nádorů močového měchýře. Dále byla ALA použita při léčbě nádorů hlavy a krku a dokonce i prostaty (Allison a Sibata 2010).

#### 5.4.2.1.2 Estery 5-aminolevulové kyseliny

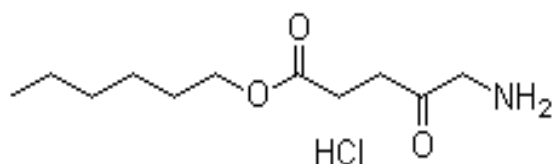
Používány jsou také esterifikované deriváty ALA. Výhodou je zlepšení farmakologických vlastností a lepší retence v nádorové tkáni, což přispívá k lepší detekci nádorů (Allison a Sibata 2010).

Methylované deriváty (methyl-aminolevulová kyselina, MALA) mají větší lipofilitu než ALA. Studie dokazují, že s použitím MALA, aktivující světlo proniká do hloubky až 2 mm, což je výhodou ve srovnání s ALA, kdy světlo proniká do hloubky pouze 1 mm. Po dosažení cílové struktury (intracelulární esterázy) způsobující demethylaci, přechází ALA biochemickými reakcemi na protoporfyrin IX. MALA má nižší kvantové výtěžky fluorescence, ale dosahuje velmi dobrých výsledků při léčbě melanomů, jiných kožních onemocnění a prekanceróz.



**Obrázek 6** Struktura MALA ve formě hydrochloridu

K dispozici je také HALA (hexaminolevulová kyselina). Tento derivát vykazuje vysokou fluorescenci a zvyšuje přesnost léčby rakoviny močového měchýře. Po i. v. aplikaci se PS hromadí v tumorové tkáni močového měchýře a svou fluorescencí upřesňuje místo možné resekce. HALA byla v roce 2010 schválena Americkým úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) k léčbě rakoviny močového měchýře (Ormond a Freeman 2013).



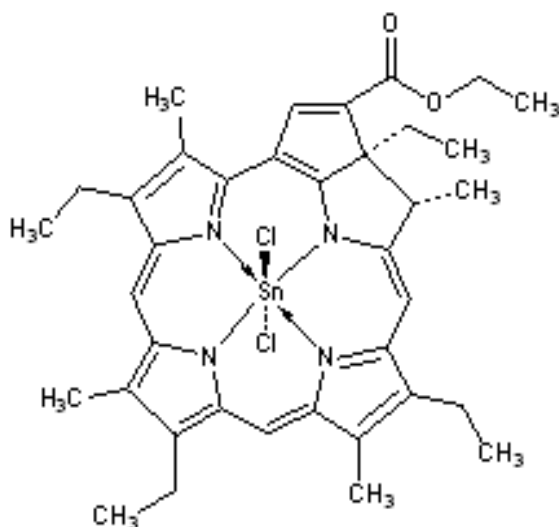
**Obrázek 7** Struktura HALA ve formě hydrochloridu

Kromě onkologických malignit je ALA také hojně využívána v dermatologii. Je prokázáno, že po ošetření kůže pomocí PDT, je pokožka méně vrásčitá. ALA se k omlazení kůže využívá po celém světě a zdá se býti velmi perspektivní pro budoucí neonkologické použití (Allison a Sibata 2010).

### 5.4.2.2 CHLORINY

#### 5.4.2.2.1 *Rostaporfin*

Rostaporfin (etiopurpurin, Purlytin<sup>®</sup> nebo Photrex) patří mezi metalochloriny. Ve svém jádře obsahuje cínový kation, který posouvá absorpční maximum rastaporfinu k vlnové délce 660 nm. Jedná se o syntetický purpurin – produkt rozkladu chlorofylu. Tento lék je hydrofobní, proto se musí vázat na nosičový systém. Dávka tohoto PS musí být dostatečně velká (1,2 mg/kg), neboť jeho účinnost není příliš vysoká. Ozáření dostatečně vysokou dávkou světla se provádí zhruba po 24 hodinách. Důsledkem použití velkého množství absorbující látky a světla je dlouhotrvající kožní fotosenzitivita (7 - 14 dní) (Allison a Sibata, Yano a kol 2011).

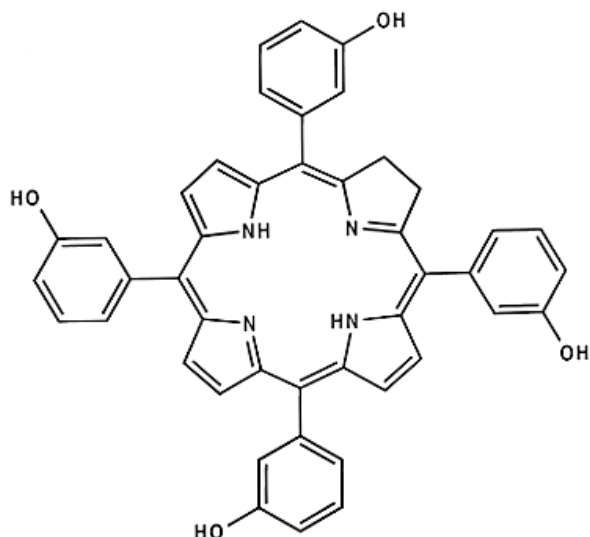


**Obrázek 8** Struktura Rostaporfinu

Purlytin® je studován pro léčbu recidivujících metastazujících karcinomů prsu a kožního karcinomu bazálních buněk. V roce 2002 se nacházel ve druhé fázi klinických studií pro terapii Kaposiho sarkomu. Tyto studie však byly z finančních důvodů přerušeny. U použití pro léčbu nemaligního onemocnění, věkem podmíněné makulární degenerace (AMD) byla dokončena třetí fáze klinických studií. Americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) však rostaporfin zatím schválen nebyl, neboť jsou požadována další hodnocení jeho bezpečnosti a účinnosti (Allison a Sibata 2010, Macdonald a Dougherty 2001).

#### **5.4.2.2 Temoporfin**

Temoporfin, jiným názvem *m*-tetrahydroxyfenylchlorin (mTHPC) je další synteticky vyráběný chlorin se širokým využitím ve fotodynamické terapii. Patří mezi nejúčinnější PS, proto se musí používat méně pronikající zelené světlo a velmi nízké dávky (0,1 – 0,2 mg/kg), aby se snížila jeho nežádoucí fototoxicita. Absorpční maximum této látky se pohybuje v oblasti kolem 652 nm. Negativy této látky jsou její farmakokinetické parametry. Zásadní je špatná selektivita a doba mezi podáním temoporfinu a ozářením. V mnohých studiích se tento údaj liší, avšak jsou udávány v průměru 3 až 4 dny, poté se koncentrace látky v tumorové tkáni začne snižovat. I přesto, že aplikace tohoto PS trvá jen několik minut, může pacient pociťovat bolest a již první den po aplikaci může dojít k silné fotoreakci (i působením velmi tlumeného světla). Fotosenzitivita kůže může trvat až 6 týdnů (běžně 2 – 4 týdny) (Allison a Sibata 2010).

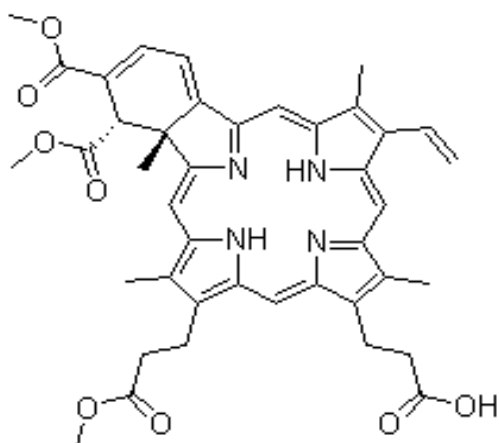


**Obrázek 9** *Struktura temoporfinu*

Obchodní název tohoto léčiva je Foscan<sup>®</sup>. Poprvé byl syntetizován v roce 1989. Jako první PS byl použit v klinické studii maligních nádorů prostaty uskutečněné v roce 2002 ve Velké Británii a poté znovu v roce 2006. Tyto dvě studie prokázaly potenciální účinnost temoporfinu v léčbě karcinomu prostaty. Bohužel další studie byly z finančních důvodů zamítnuty. Foscan<sup>®</sup> byl také studován pro použití při léčbě rakoviny jícnu, hrtanu, plic, žaludku, prostaty a kůže (Macdonald a Dougherty 2001, Yano a kol 2011). Je schválen pro klinické užití k léčbě rakoviny hlavy a krku. V roce 2001 se v Evropě začal využívat k léčbě premaligních lézí těchto dvou oblastí. S úspěchem byl použit i při léčbě malignit dutiny ústní a rtů (Yano a kol 2011).

#### **5.4.2.2.3** *Verteporfin*

Verteporfin (benzoporphyrinový derivát, BPD) je známý pod obchodním názvem Visudyne<sup>®</sup>. Ačkoliv se jedná o látku odvozenou od protoporphyrinu, patří verteporfin do skupiny chlorinu. To mu zaručuje posunutí absorpčního maxima až k vlnové délce 690 nm. Díky tomu proniká světlo až dvakrát hlouběji než při použití Photofrinu<sup>®</sup> (630 nm). Tento PS se špatně rozpouští ve vodě, proto se musí podávat ve formě liposomů. Velkou výhodou je jeho rychlá akumulace v nádorové tkáni. Z této tkáně a hlavně z celého těla je ovšem vylučován také velmi rychle. Kožní fotosenzitivita proto přetrvává jen pár dní po podání (48 hodin) (Zimčík a Miletín 2004b, Zimčík a Miletín 2009).



**Obrázek 10** *Struktura verteporfinu*

Ozáření aktivujícím světlem se provádí 30 – 150 min po jeho aplikaci, neboť verteporfin se již po této době začne z nádorové tkáně ve významné míře vylučovat. Typická je u použití tohoto PS, podobně jako u temoporfinu, bolest při aplikaci (Zimčik a Miletín 2004b).

Největšího úspěchu dosáhl verteporfin v oftalmologii. Proběhla studie se 402 pacienty, kteří byli léčeni Visudyne. Po roce u 67 % pacientů došlo ke zlepšení stavu (FDA.gov). Nejvíce se používá k léčbě AMD. Toto progresivní onemocnění způsobuje u lidí nad 50 let zhoršené vidění končící slepotou. V cévnatce oka se vytváří abnormální neovaskularizace. Prosakování z abnormálních cév pak poškozuje sítnici a urychluje tak ztrátu zraku. Verteporfin způsobuje narušení a uzávěr cév, čímž se stává vhodným pro léčbu tohoto onemocnění – tento přístup v PDT je nazýván na cévy zaměřená fotodynamická terapie, zkráceně VTP. U 85-90% nemocných nezabírá žádná jiná léčba. Verteporfin je v oftalmologii používán i v České republice (Ackroyd a kol 2001, Zimčik a Miletín 2009).

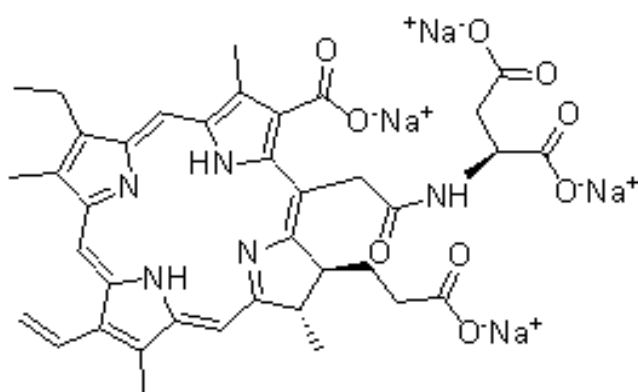
Verteporfin se nepoužívá jen k léčbě AMD, ale osvědčil se i v dermatologii. Zde je používán pro terapii nemelanomových nádorů kůže (Abelson a Ingerman 2005, Zimčik a Miletín 2004b).

#### **5.4.2.2.4 Talaporfin**

Talaporfin neboli mono-N-aspartyl chlorin-e6 je derivát chlorinu rozpustný ve vodě. Stejně jako verteporfin se rychle akumuluje ve tkáni a také ji rychle opouští. Ozáření světlem proto nastává po 4 hodinách od aplikace. Tento PS je aktivován zářením vlnové délce 664 nm. Fotodynamická reakce trvá zhruba 12 hodin. Následná

fotosenzitivita kůže je velmi nízká, trvá 3 – 7 dní a zcela vymizí do dvou týdnů. Tento hydrofilní PS a eliminuje se žlučí (Allison a Sibata 2010, Yano a kol 2011). Při použití nízkých dávek PS i světla byl ústup tumoru jen dočasný, proto se vyžadují dávky dostačující k dlouhodobé regresi, které však snižují selektivitu látky. Talaporfin sodný, s obchodním názvem Laserphyrin<sup>®</sup>, je zkoumán především pro použití při léčbě nádorů hlavy a krku, hrtanu, orální dutiny, hltanu a jater (Allison a Sibata 2010). V roce 2010 proběhla studie talaporfinu v Japonsku. Předmětem hodnocení bylo 7 pacientů s karcinomem žlučovodu. 6 hodin po aplikaci byl do žlučovodů endoskopicky přiveden laser a léze byla ozářena. 4 pacienti podstoupili chirurgickou resekci. U 3 pacientů došlo ke zlepšení stavu bez relapsů a prodloužení života, 3 pacienti zemřeli na jiná onemocnění. Kromě toho u pacientů bylo prokázáno daleko méně vedlejších účinků než při klasických metodách léčby (Nanashima a kol 2012).

Schválen byl v Japonsku, kde prošel třetí fází klinických studií a nyní se využívá k léčbě časných stádií rakoviny plic. Ve třetí fázi klinických studií se talaporfin nachází i ve výzkumu jeho účinku při léčbě hepatocelulárního karcinomu, hepatomu a metastazujícího kolorektálního karcinomu. Účinnost talaporfinu při léčbě mozkových gliomů je ve druhé fázi klinických studií. V první fázi klinických zkoušek je nyní pro léčbu rakoviny kůže vznikající z bazálních buněk a pro léčbu adenokarcinomu prsu (Allison a Sibata 2010, Zimčík a Miletín 2004).

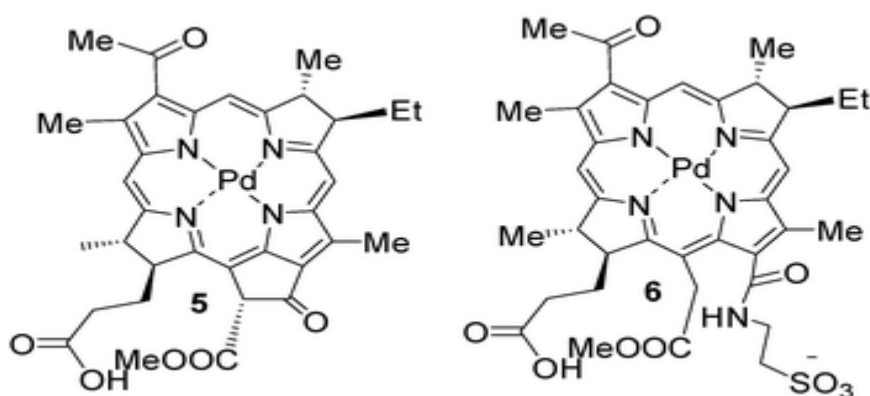


**Obrázek 11** Struktura talaporfinu

### 5.4.2.3 BAKTERIOCHLORINY

#### 5.4.2.3.1 *Padoporfin/Padeliporfin*

Obě tyto látky jsou deriváty bakteriochlorofylu s centrálně koordinovaným atomem palladia. Padoporfin je ve vodě nerozpustný, proto je pro jeho účinnost nutná aplikace v nosičovém systému (například Cremophor). Podává se i. v. infuzí. Můžeme se také setkat s názvy WST09 a Tookad<sup>®</sup>. Padeliporfin (WST11, Stakel<sup>®</sup>, Tookad<sup>®</sup> Soluble) je ve vodě rozpustný, může být tedy aplikován přímo, bez použití pomocných látek (Allison a Sibata 2010).



Obrázek 12 Struktura padoporfinu (vlevo) a padeliporfinu (vpravo)

Obě léčiva se rychle vylučují z těla, což zkracuje dobu fotosenzitivity, která trvá zhruba 3 hodiny. Ozáření tedy nastává krátce po aplikaci fotosenzitizéru. Terapie je obecně dobře snášená a může se provádět i ambulantně. U padoporfinu se používá světlo o vlnové délce 763 nm a u padeliporfinu světlo o vlnové délce 753 – 757 nm. Penetrace světla kůží je tedy poměrně hluboká. Padoporfin i padeliporfin se využívají ve VTP. Mechanismem VTP je poškození cévního endotelu s následující kaskádou dějů, včetně trombózy a okluzí cév, což vede k nekróze tumoru (Allison a Sibata 2010).

VTP s použitím padeliporfinu je v současné době hodnocena pro léčbu rakoviny prostaty. První studie byly zahájeny v roce 2004 v Torontu. Později byly uskutečněny také v Evropě, Severní Americe a Latinské Americe. Pacientům, kteří byli zařazeni do fáze I a II klinických studií byly i. v. aplikovány 4 mg/kg nebo 6 mg/kg Tookad<sup>®</sup> s následnou aktivací laserovým světlem pomocí optických vláken. U 74 % pacientů byl po 6 měsících prokázán negativní histopatologický nález pro rakovinu prostaty. Bylo dokázáno, že pomocí VTP lze zcela odstranit léze, které jsou dobře ohraničené. WST09

ani WST11 zatím nebyl schváleny pro běžné používání (Azzouzi a kol 2013, Azzouzi a kol 2015, Betrouni a kol 2011).

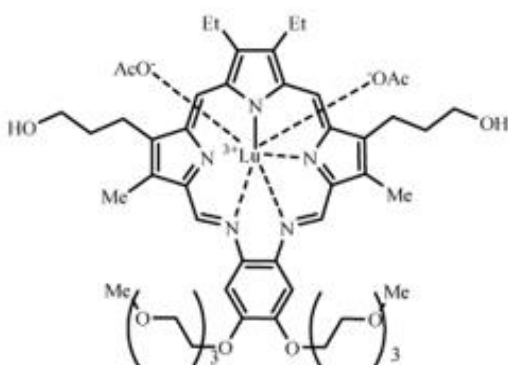
Padeliporfin je studován také pro léčbu věkem podmíněné makulární degenerace a melanomu. WST09 ani WST11 zatím nebyli schváleny pro běžné používání (Allison a Sibata 2010).

#### 5.4.2.4 TEXAPYRINY

##### 5.4.2.4.1 *Motexafin lutetium*

Texapyriny jsou synteticky vyráběné, ve vodě rozpustné deriváty porfyriu, které našly mimo jiné i široké uplatnění v diagnostice. Motexafin Lutetium obsahuje makrocyclické jádro s chelatovaným atomem lutecia uprostřed. Jeho velkou výhodou je absorpce světla o vlnové délce 732 nm, což umožňuje proniknutí světla hluboko do tkáně. Může být použit k léčbě silně pigmentovaných maligních melanomů. Dávka bývá 2 – 3 mg/kg, ale doba ozáření je závislá na cíli léčby. Lutetium je vysoce selektivní, akumuluje se v nádorové tkáni a v nově vznikajících cévách. Vylučování z těla též probíhá velmi rychle, proto je možné léčbu s použitím této látky opakovat, při čemž při opakované aplikaci byla prokázána daleko lepší odezva, než při jednorázové aplikaci. Značnou výhodou je také jednodenní kožní fotosenzitivita (Ackroyd a kol 2001, Allison a Sibata 2010, Yano a kol 2011).

Tato látka má v závislosti na cíli léčby různé obchodní názvy – nejdůležitější je Lu-Tex. Lutrin<sup>®</sup> studovaný pro použití v onkologii se zdá být slibným PS v léčbě recidivující rakoviny prostaty, karcinomů prsu a rakoviny děložního čípku (Yano a kol 2011, Zimčík a Miletín 2004b).



Obrázek 13 Struktura Lutexu (Ormond a Freeman 2013)



Motexafin Lutetium pod obchodním názvem Antrin<sup>®</sup> se používá k léčbě kardiovaskulárních onemocnění. V současné době se nachází ve 2. fázi klinických studií pro použití při léčbě aterosklerózy a prevenci opětovného cévního zužování po srdeční angioplastice. Antrin<sup>®</sup> se hromadí v aterosklerotickém plátu, který je následně ozářen světlem přivedeným optickým vláknem. Léčbou dochází k inaktivaci a odstranění pěnových buněk a buněk hladké svaloviny, které se v plátech hromadí. Třetím názvem je Optrin<sup>®</sup>. Ten je studován v souvislosti s léčbou AMD (Josefsen a Boyle 2008).

#### **5.4.2.4.2 Motexafin gadolinium**

Tato látka také patří mezi texapyriny. Její obchodní název je Xcytrin<sup>®</sup> a v poslední době upoutal daleko větší pozornost než Motexafin Lutetium. Tyto látky jsou si velmi podobné, ale Xcytrin<sup>®</sup> ve svém jádře obsahuje místo atomu lutetia atom gadolinia, což mu propůjčuje jiné vlastnosti.

Ke své aktivaci potřebuje vysokoenergetické rentgenové záření, neřadí se tak mezi klasické fotosenzitizéry, ale přesněji mezi radiosenzitizéry. Tato látka je studována v souvislosti s nádory mozku, plic a nehodgkinovskými lymfomy. Gadolinium patří mezi paramagnetické kovy, je detekován magnetickou rezonancí, a proto se tato látka stala významným diagnostickým ukazatelem (Allison a Sibata 2010, Yano a kol 2011).

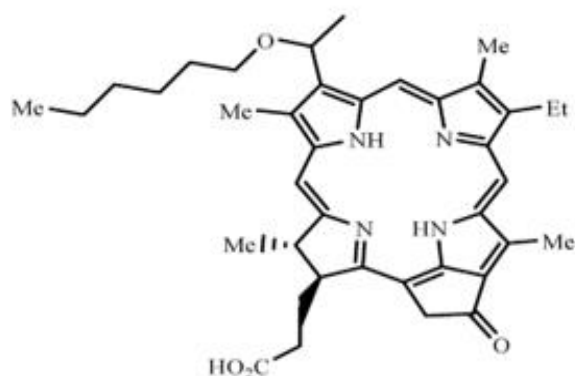
#### **5.4.2.5 FEOFORBIDY**

##### **5.4.2.5.1 Photochlor (HPPH)**

Photochlor neboli 2-(1-hexyloxyethyl)-2-devinyl pyrofeoforbid (HPPH) je derivát chlorinu. Jedná se o lipofilní látku, která se poměrně dlouho vylučuje z těla. V plazmě ji můžeme nalézt i několik měsíců po terapii. Aktivuje se při vlnové délce 665 nm, kdy světlo proniká do hlubších vrstev a také při 408 nm, čehož se využívá k povrchovému ošetření. Dávka HPPH je 2,5 – 6 mg/m<sup>2</sup> a k ozáření dochází 48 hodin po aplikaci. Je více selektivní než Photofrin<sup>®</sup>. I přesto, že je látka dlouhodobě zadržována v těle, kožní fotosenzitivita nenastává nebo bývá prokázána maximálně 3 dny od infuze (Allison a Sibata 2010, Yano a kol 2011).

V současné době se HPPH nachází v první fázi klinických studií pro použití k léčbě rakoviny plic. S použitím dávky 4 mg/m<sup>2</sup> byla prokázána vysoká účinnost

s minimální fotosenzitivitou. Dále se tato látka klinicky hodnotí v souvislosti s léčbou rakoviny jícnu, hlavy a krku, Barretova jícnu a bazálních buněk (Allison a Sibata 2010).

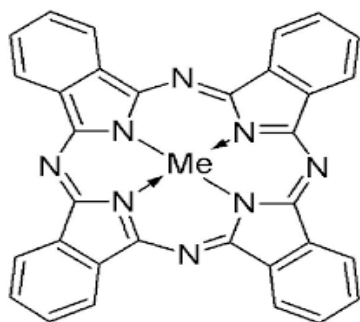


*Obrázek 14 Struktura HPPH (Ormond a Freeman 2013)*

Vzhledem ke své relativně jednoduché syntéze, bezpečnosti, vysoké klinické účinnosti a minimální fotosenzitivitě se HPPH může v budoucnu přesunout do popředí fotodynamické terapie (Allison a Sibata 2010, Ormond a Freeman 2013).

#### **5.4.2.6 FTALOCYANINY**

Ftalocyaniny (Pc) jsou silné PS, jejichž struktura je velmi podobná porfyrinům. Na každou pyrolovou jednotku je připojen benzenový kruh, který zesiluje absorpci světla. Pc absorbují při vlnové délce 670 – 700 nm. Zvýšená absorpce a posunutí absorpčního maxima řadí tyto látky mezi nadějnou skupinu PS. Dalším rozdílem je to, že porfyrinové jednotky nejsou spojeny methylovými můstky, ale atomy dusíku. V centru navíc zaujímá své místo atom kovu nebo polokovu, významný právě pro PDT. Centrálně vázaný atom zvyšuje produkci <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, čímž se daný PS stává účinnějším. Většinou se jedná o zinek, hliník nebo křemík (Allison a Sibata 2010, Josefsen a Boyle 2008).



**Obrázek 15** *Struktura ftalocyaninu s centrálně vázaným atomem*

Tyto látky jsou velmi hydrofobní, nastává tak problém s jejich aplikací. Ve vodném prostředí mají tendenci agregace, což vede ke snížení až ztrátě jejich fotochemické aktivity. Toto chování lze potlačit přidáním vhodných detergentů nebo například inkorporováním uvnitř liposomů. K ozáření dochází zhruba hodinu po aplikaci PS. Z těla se tyto látky vylučují poměrně rychle, a to do 24 hodin, kožní fotosenzitivita je minimální (Allison a Sibata 2010, Ormond a Freeman 2013, Zimčík a Miletín 2004b).

Pc s obchodním názvem Photosens<sup>®</sup> je směs hliníkových Pc nesoucích dva až tři sulfonové kyselinové substituenty. Nejvyšší absorpce dosahuje při vlnových délkách 675 nm a má největší absorpční koeficient ze všech PS druhé generace. Použití Photosensu<sup>®</sup> probíhá stejným postupem jako u Photofrinu<sup>®</sup>, ale s menší dávkou (0,5 – 0,8 mg/kg) a ozářením 24 – 72 hodin po infuzi. Sulfonace navíc výrazně zvyšuje rozpustnost v polárních rozpouštědlech včetně roztoků na bázi vody. Photosens<sup>®</sup> prošel v Rusku třetí fází klinických studií a v roce 2001 byl schválen pro léčbu dlaždícobuněčného karcinomu kůže, rakoviny prsu, plic, hrtanu, žaludku a dutiny ústní (Josefsen a Boyle 2008, Yano a kol 2011).

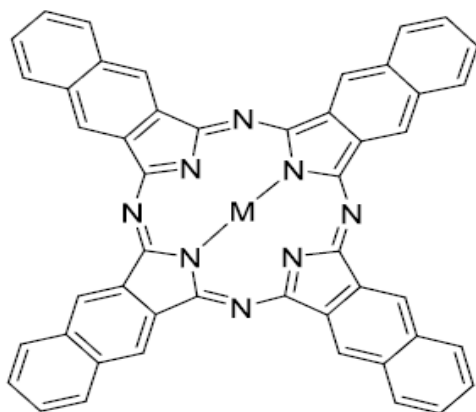
Ftalocyanin obsahující ve svém centru zinek (ZnPc) prošel první a druhou fází klinické studie proti karcinomu gastrointestinálního traktu a skvamózních buněk kůže (Josefsen a Boyle 2008). Byl také syntetizován s cílem zjistit cytotoxicitu a intracelulární vychytávání při použití k léčbě karcinomu prsu, rakoviny vaječníků a děložního čípku. Ukázalo se, že akumulace v nádorových buňkách je 4x vyšší než v buňkách normálních. Pozornost si získal také jeho radiosenzitivními účinky. Díky nim nachází uplatnění také v diagnostice. Byly také prokázány jeho antibakteriální účinky (Allison a Sibata 2010, Chen a kol 2016). Dalším využitím je syntéza nanokapslí obsahujících ZnPc, díky kterým by bylo do těla dodáváno léčivo pro použití při PDT (Souza a kol 2016).

Třetím Pc je křemičitý komplex označovaný jako Pc4 (je stále předmětem studií). Prošel první fází klinické studie pro léčbu aktinické keratózy a nádorů kůže. Také byl studován na sterilizaci krevních komponent (Josefsen a Boyle 2008).

#### 5.4.2.7 NAFTALOCYANINY

Naftalocyaniny (NPc) jsou deriváty Pc, kde jsou na pyrolové jednotky místo benzenových jader připojena jádra naftalenová. Rozsáhlý systém konjugovaných vazeb ještě více zvyšuje absorpci světla a posouvá absorpční pás až k vlnovým délkám 740 až 780 nm. Prostup světla tkání je tedy poměrně vysoký a umožňuje tak léčbu i běžně špatně propustných vysoce pigmentovaných melanomů. NPc lze také použít jako zobrazovací látky (Josefsen a Boyle 2008).

Hlavní nevýhodou NPc je obecně nižší stabilita v porovnání s jejich příbuznými Pc. Snadno se rozkládají za přítomnosti světla a kyslíku, což je v PDT, kde hlavními složkami jsou právě kyslík a světlo, značný problém (Josefsen a Boyle 2008). NPc jsou také daleko méně rozpustné než Pc, což negativně ovlivňuje úspěšnost PDT a musí být použit vhodný nosič (Josefsen a Boyle 2008, Zimčík a Miletín 2009).



*Obrázek 16 Struktura naftalocyaninu s centrálně vázaným atomem*

V roce 2015 američtí vědci vytvořili léčivo, jehož základem je NPc, ale je daleko rozpustnější, a proto lépe použitelné pro PDT. Jedná se o jedinou látku založenou na bázi biokompatibilní nanoplatformy, která absorbuje v blízkosti oblasti infračerveného záření a má fotodynamický a fototermitický efekt. Vyvinuté léčivo se skládá ze dvou stavebních bloků. Křemičitý NPc (Sinc) slouží k fluorescenčnímu zobrazení a jako fototerapeutické

čínidlo, poly(ethylenglykol)-poly( $\epsilon$ -kaprolakton) (PEG-PCL) uskutečňuje degradaci nosičů pro křemičitý NPc. Spojením křemičitého NPc s polymerními nanočásticemi PEG-PCL vznikla sférická, monodisperzní částice Sinc-PNP s hydrodynamickou velikostí cca 37,66 nm a s povrchovým nábojem cca 2,76 mV. Tyto částice silně absorbují v blízké infračervené oblasti a absorbovanou energii umí účinně převést na fluorescenční emisi, teplo a reaktivní formy kyslíku. Mimo to se Sinc-PNP vyznačuje vynikající fotostabilitou při skladování – při pokojové teplotě po dobu 30 dní. Po i. v. podání se Sinc-PNP selektivně hromadí v nádorové tkáni a vykazuje vysoký kontrast mezi tkání tumorovou a zdravou.

Testy byly prováděny na myších. Byla použita jedna intravenózně podaná dávka léčiva (1,5 mg/kg) s následným ozářením, které trvalo 10 minut a bylo použito světlo o vlnové délce 785 nm. Výsledkem bylo úplné odstranění adriamycin-rezistentního tumoru z myšího těla bez recidivy. To ukazuje na potenciál tohoto PS pro slibné klinické použití v PDT (Taratula a kol 2015).

### **5.4.3 Neporfyrinové fotosenzitizéry**

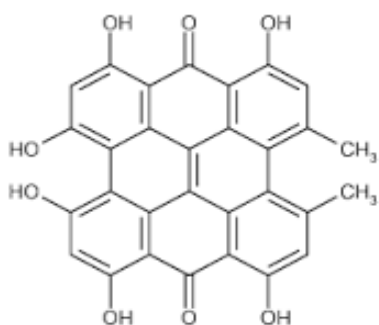
Většina PS obsahuje ve své struktuře porfyrinovou jednotku. Celá řada takovýchto PS je schválena ke klinickému použití v PDT. I přesto, že porfyrinové deriváty vykazují v PDT vynikající účinnost, mají také své nedostatky. Jedná se například o relativně špatnou fotostabilitu, omezenou rozpustnost ve vodném prostředí a dlouhodobou kožní fotosenzitivitu. Proto je vynakládáno velké úsilí k vytvoření nových PS, u kterých by se eliminovaly tyto negativní vlastnosti. Bylo zjištěno, že existují chromogeny bez porfyrinového jádra, které také vykazují fotodynamickou aktivitu. Patří sem zejména antrachinony, xantheny, fenothiaziny, cyaniny a kurkuminoidy. Tyto látky jsou ve zdravotnictví využívány také pro svůj antibakteriální a antivirový účinek a barvení biologického materiálu (Ormond a Freeman 2013, Yano a kol 2011).

Bohužel i přesto, že rozvíjející se neporfyrinové PS mají své výhody (rozpustnost ve vodě, fotostabilita a další), jejich fotodynamický účinek není stále dostačující pro klinické použití. Jejich studii, vylepšováním vlastností a syntézou analogů mohou být v budoucnu vyvinuty fotodynamicky účinné PS (Yano a kol 2011).

### 5.4.3.1 ANTRACHINONY

#### 5.4.3.1.1 *Hypericin*

Hypericin je přirozeně se vyskytující derivát antrachinonu, který je extrahován z třezalky tečkované (*Hypericum perforatum*) a je známý pro syntézu ROS, které působí proti nádorovým buňkám. Absorbuje při vlnové délce 590 nm. Byly prováděny klinické studie pro léčbu spinocelulárního a bazocelulárního karcinomu, ale výsledky nebyly uspokojivé. Proto se studie dále zaměřují na optimalizaci a zvýšení dávkování léčiva za požití vhodného světla (Ormond a Freeman 2013).



Obrázek 17 Struktura Hypericinu (Ormond a Freeman 2013)

#### 5.4.3.1.2 *Deriváty hypocrelinu*

Hypocrelin A (NP1) a B (NP2) jsou přirozeně se vyskytující polycyklické chinony izolovány z houby *Hypocrella bambuase*, která se vyskytuje v Číně. Tyto látky absorbují při 580 a 590 nm a mají relativně velký kvantový výtěžek  $^1\text{O}_2$  (Yano a kol 2011).

### 5.4.3.2 FENOTHIAZINY

Tyto kationtová barviva jsou dobře známá díky jejich používání k barvení RNA a DNA. Ovšem jsou to také účinné PS, které také generují  $^1\text{O}_2$ . Potencionálním problémem by mohla být jejich významná cytotoxicita (Yano a kol 2011).

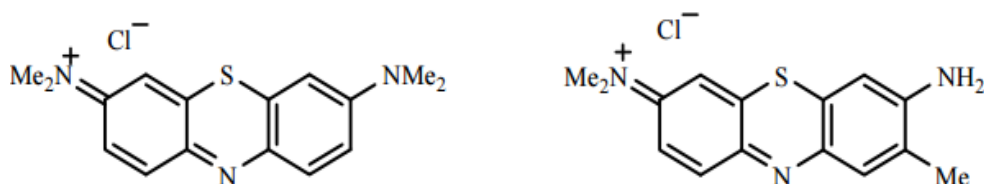
#### 5.4.3.2.1 *Methylenová modř*

Methylenová modř (MB), absorbuje při 666 nm a je účinným PS *in vitro*, bohužel *in vivo* nevykazuje po i. v. podání účinky potřebné k úspěšné PDT. Tento nedostatek může být způsoben vysokou hydrofilitou tohoto barviva. Byly syntetizovány analogy nesoucí alkylové řetězce pro snížení hydrofility. PDT využívající MB se zaměřuje především na melanomové buňky. Klinicky se však používá i pro léčbu karcinomu

bazálních buněk a Kaposiho sarkomu. V současné době je studována v souvislosti s nádory močového měchýře a děložního čípku. Také byly dokončeny studie pro využití při léčbě chronické paradontózy (Ormond a Freeman 2013, Yano a kol 2011).

#### 5.4.3.2.2 Toluidinová modř

Toluidinová modř má vysokou afinitu ke kyselým buněčným strukturám (DNA, RNA). V medicíně má mnohonásobné uplatnění. In vivo byla použita k identifikaci dysplazie a karcinomu dutiny ústní. V současné době prochází druhou fází klinických studií pro léčbu chronické paradontózy. Tato látka absorbuje při 596 a 630 nm (Ormond a Freeman 2013, Sridharan a Shankar 2012).



Obrázek 18 Struktura methylenové modři (vlevo) a toluidinové modři (vpravo) (Ormond a Freeman 2013)

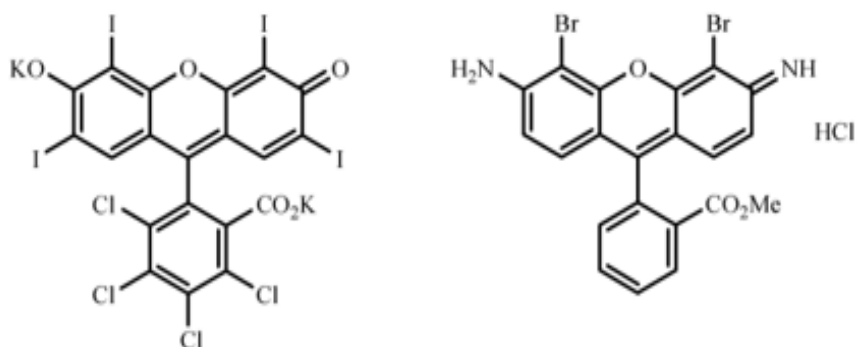
#### 5.4.3.3 XANTHENY

##### 5.4.3.3.1 Bengálská růžová

Bengálská růžová je ve vodě rozpustný xanthen, absorbující při 549 nm. Tento PS je za použití PDT experimentálním prostředkem pro léčbu karcinomu prsu a metastazujícího melanomu. Také bylo zjištěno, že *in vitro* má tento PS v závislosti na dávce toxické účinky na epitelální buňky rohovky (Abelson a Ingerman 2005, Ormond a Freeman 2013).

##### 5.4.3.3.2 4,5 – dibromrhodamin methyl ester

4,5 – dibromrhodamin methyl ester (TH 9409) absorbuje při 514 nm. Přítomnost halogenidů zvyšuje účinnost generování singletového kyslíku. Bylo zjištěno, že tento PS lze účinně použít při eliminování rejekce transplantovaného štěpu. Tato látka totiž účinně působí proti lymfocytům indukci apoptózy. TH 9409 vstoupil do klinických studií zabývajících se alogenní transplantací kmenových buněk (Ormond a Freeman 2013).

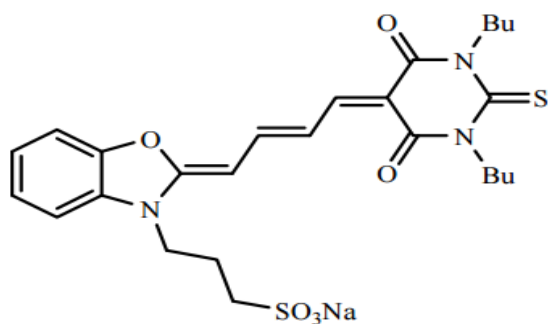


Obrázek 19 Struktura Bengálské růžové (vlevo) a TH 9402 (vpravo) (Ormond a Freeman 2013)

#### 5.4.3.4 CYANINY

##### 5.4.3.4.1 Merocyanin 540

Merocyanin 540 je výjimečný tím, že je propouštěn membránami leukemických leukocytů a nezralých hemopoetických progenitorových buněk. Tím dokáže úspěšně odlišit zralé buňky od maligně transformovaných. Zatím byl hodnocen pouze v preklinických studiích a in vitro modelech. Tento PS absorbuje při 556nm (Ormond a Freeman 2013, Tomanová a Jurášek 2014).



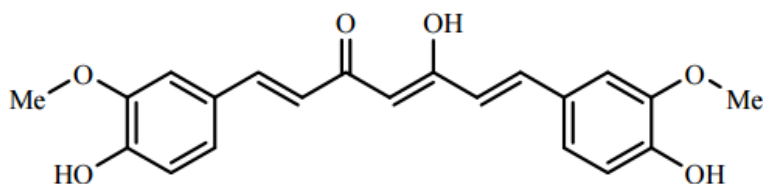
Obrázek 20 Struktura Merocyaninu 540 (Ormond a Freeman 2013)



### 5.4.3.5 KURKUMINOIDY

#### 5.4.3.5.1 *Kurkumin*

Kurkumin je přírodní barvivo izolované z oddenků kurkumy dlouhé (*Curcuma longa*) a je součástí mnoha koření. Kurkumin absorbuje při 420 nm a díky jeho fotodynamickému účinku byl využit v pilotní studii jako dezinfekční prostředek ústní dutiny při chirurgických zákrocích. Toto přírodní barvivo bylo také navrženo jako prostředek pro ničení bakterií (Ormond a Freeman 2013).



Obrázek 21 Struktura Curcuminu (Ormond a Freeman 2013)

### 5.4.4 Fotosenzitizéry třetí generace

Jelikož PS první a druhé generace mají špatnou rozpustnost ve vodném prostředí (hlavně ve fyziologickém pH), je ztíženo intravenózní podání těchto látek přímo do krevního řečiště. Záměrem je tedy vyvinout vhodné přenašeče, díky kterým se PS dostane až do cílových tkání, a zároveň zvýší selektivnost vychytávání tkání nádorovou. Potenciálními přenašečovými systémy mohou být oleje ve vodě zabudované do liposomů, nanočástice a emulgátory.

Ačkoliv používání těchto přenašečových systémů může zvýšit léčebný účinek pozorovaný v důsledku PDT, negativně může být ovlivněna tvorba  $^1\text{O}_2$ . Singletový kyslík by měl být schopen difundovat ven z nosičového systému, jinak nedosáhne buněčného cíle a nevyvolá požadovaný efekt (Josefsen a Boyle 2008).

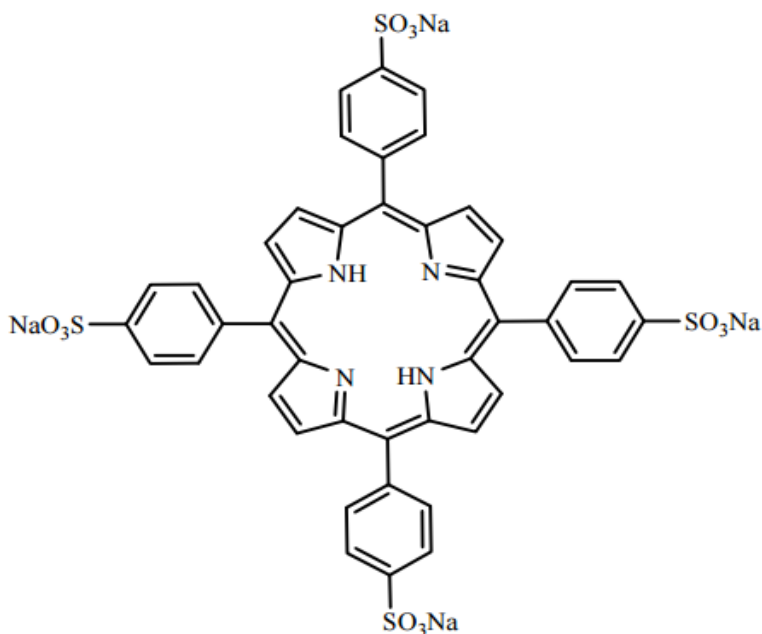
Alternativní způsob dodání PS do cíle, je použití cílených biologicky aktivních molekul, mezi které patří peptidy, protilátky, fragmenty protilátek, proteiny (insulin, epidermální růstový faktor, transferrin), hormony (somatostatin, pohlavní hormony), některé sacharidy, kyselina listová, lipoproteiny s nízkou hustotou (LDL) a další (Agostinis a kol 2011, Josefsen a Boyle 2008).

Využití LDL jako nosiče je poměrně jednoduché, jelikož nádorové buňky mají většinou na svém povrchu zvýšené množství LDL receptorů, neboť rychlá proliferace vyžaduje velké množství cholesterolu pro stavbu nových membrán. Do LDL může být zabudován hydrofobní PS, který je pak přenesen do maligní buňky díky vychytávání LDL částic příslušnými receptory (Allen a kol 2011).

PS třetí generace v současné době představují slibnou metodu pro léčbu kolorektálního karcinomu (Josefsen a Boyle 2008).

#### 5.4.4.1.1 TPPS4

Slibným PS je nově syntetizovaný sulfonový derivát porfyrinů (TPPS4). Jedná se o hydrofilní PS se známou strukturou a možností syntetické výroby. In vitro byla zjišťována jeho toxicita, generace ROS, buněčný cyklus a typ indukované buněčné smrti. Porovnávaly se TPPS4 a jeho kovové komplexy (MgTPPS4, ZnTPPS4 a PdTPPS4). Za nejvhodnější byl stanoven ZnTPPS4, neboť vykazoval největší letální účinek na nádorové buňky a nejmenší na fibroblasty (Binder a kol 2011, Valinsky a kol 1978).



Obrázek 22 Struktura TPPS4 (Ormond a Freeman 2013)

#### 5.4.4.1.2 P-OGal, P-Me, P-DCUV

Také konjugáty porfyrinů jsou studovány jako potencionální PS. Konjugáty porfyrinů se sacharidy zlepšují jejich rozpustnost a látka tak může lépe pronikat buněčnou membránou. Je také známo, že rakovinné buňky na svém povrchu obsahují lektiny,

molekuly mající afinitu k sacharidům. Mezi nejefektivnější konjugáty patří P-OGal, P-Me a P-DCUC. V porovnání s jednoduchými porfyriny jsou glykosylované porfyriny často mnohem účinnější a daleko více se hromadí v postižené tkáni. Porfirin lze konjugovat také s peptidy, steroidy nebo s retinoidy (Tita a Perussi 2001).

#### **5.4.4.1.3 *N-2-difenyl-4-aminochinazolin***

Nově studovanou látkou je také derivát 4-anilinochinazolinu – N-2-difenyl-4-aminochinazolin. Studia proběhla v Bratislavě. Byla zjišťována toxicita a způsob smrti nádorových buněk kůže po osvětlení UVA zářením. Po 3 dnech bylo zjištěno, že antiproliferační aktivita stoupala úměrně se stoupající koncentrací podané látky, přičemž UVA záření zvyšovalo účinek (Melušová a kol 2015).

#### **5.4.4.1.4 *mPEG-b-PLLA***

Potencionální použití pro PDT mají také mPEG-b-PLLA micely. Jedná se o polymerní micely vyrobené a použité jako nový biologicky rozložitelný a kompatibilní nosič pro rozpuštění hydrofobního ZnPc. Tento nosič byl studován in vitro a prokázal koloidní stabilitu a trvalé uvolňování nesené látky. Byla zkoumána fototoxicita jak nativního, tak do micel zapouzdřeného ZnPc na metastatické buňky melanomu. Výsledky ukazují, že s použitím tohoto nosiče dochází k inhibici růstu nádorových buněk a indukci apoptózy. Navíc se zdají být hematologicky biokompatibilní a bezpečné pro normální makrofágy, keratinocyty a endotelové buňky (Kulbacka a kol 2016).

#### **5.4.4.1.5 *ZnPc s imidazolovými zbytky***

Nově byl také syntetizován ftalocyanin zinečnatý nesoucí šestnáct imidazolových zbytků. Ten byl testován in vitro a byla prokázána jeho vysoká rozpustnost ve vodě, při čemž nevznikají agregáty. Tento ftalocyanin má vynikající protinádorovou fotodynamickou aktivitu a nízkou toxicitu k nenádorovým buňkám (Makhseed a kol 2013).

#### **5.4.4.1.6 *ZnPcS4***

Také zinečnatý ftalocyanin tetrasulfonát (ZnPcS4) je předmětem studie. In vitro byla zjišťována schopnost ZnPcS4 uzavřít cévy při choroidální neovaskularizaci (CNV). CNV byla uměle vytvořena a následně došlo k aplikaci látky a ozáření. Bylo prokázáno, že ozáření 20 min po aplikaci ZnPcS4 vytvořilo kompletní uzávěr CNV s minimálním poškozením okolní tkáně. ZnPcS4 je nová potencionální látka pro PDT k léčbě AMD (Huang a kol 2007).

#### **5.4.4.1.7 Azafthalocyaniny - tetrapyrazinoporfyrazin**

Azafthalocyaniny (AzaPc) jsou analogy ftalocyaninů s podobnými vlastnostmi. Absorbují ve dvou pásech – 360 nm a 600 nm. Ve svém jádře obsahují, stejně jako Pc, různé kationty kovů, čímž získávají specifické vlastnosti. Studie se nejvíce zajímají porovnáváním hořečnatých a zinečnatých komplexů.

Nové PS ze skupiny AzaPc mají vysokou produkci  $^1\text{O}_2$  a absorbují v oblasti 660-700 nm. Absorpční pás lze však dále posouvat až k 750 nm. Toho lze dosáhnout například přidáním dalších benzenových jader, přičemž vznikají tetrachinoxalynoporfyraziny. Nevýhodou je vysoká tendence vytvářet agregáty a dimery, čímž AzaPc ztrácí schopnost generovat  $^1\text{O}_2$ . Při syntéze nových PS se tak musí dbát na inhibici těchto vlastností například přidáním nabitých substituentů. Špatná rozpustnost ve vodě se řeší spojením AzaPc s nosičovým systémem (liposomy).

Zavedením kvartérních amoniových skupin lze také syntetizovat AzaPc rozpustné ve vodě, které ztrácí tendenci agregace. Tyto látky po ozáření vykazují in vitro fotodynamickou aktivitu na epitelální buňky. Bez ozáření látka nevykazovala toxicitu ani za 24 hodin (Zimčík 2012).

## 6 Závěr

Od té doby, co byl poprvé v Kanadě schválen a použit k léčbě rakoviny močového měchýře Photofrin, se usiluje o vývoj nových a vhodnějších PS, které by nahradily jeho nedostatky. Postupně se daří snižovat fotosenzitivitu a zvyšovat efektivnost PDT. Bohužel však zatím nebylo schváleno příliš mnoho látek vhodných právě pro tuto metodu. I přesto, že se Photofrin zdaleka neblíží ideálnímu PS, stále je nejpoužívanější fotosenzibilní látkou v PDT. V současné době probíhají studie mnoha potencionálních látek vhodných právě pro použití v PDT. Podivuhodné je, že například WST09 má daleko lepší vlastnosti (umožňuje hlubší průnik tkání, má lepší účinnost v klinických studiích a menší fotosenzitivitu) než Photofrin a dosud nebyl schválen. Také neporfyrinové PS si získávají svou pozornost. I přes jejich široké uplatnění v medicíně, nemají pro PDT příliš vhodné vlastnosti, a je třeba dalšího výzkumu zaměřeného především na posunutí jejich absorpčního maxima k vyšším vlnovým délkám a upřesnění jejich farmakokinetických a fotofyzikálních vlastností.

I přesto je fotodynamická terapie perspektivní metodou pro léčbu maligních i benigních onemocnění a do budoucna se očekává její běžné užívání po celém světě.

## 7 Seznam použité literatury

- ABELSON, M. B.; INGERMAN, A.** The Dye-namics of Dry-Eye Diagnosis. *Review of Ophthalmology* [online]. 2005 [cit. 2016-04-29]. Dostupné z:  
[http://www.reviewofophthalmology.com/content/d/therapeutic\\_topics/i/1311/c/25254/](http://www.reviewofophthalmology.com/content/d/therapeutic_topics/i/1311/c/25254/).
- ACKROYD, R.; KELTY, C.; BROWN, N.; REED, M.** The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochemistry and Photobiology*, 2001, 74(5), s. 656-669.
- AGOSTINIS, P.; BERG, K.; CENGEL, A.; FOSTER, T. H.; GIROTTI, A. W.; GOLLNICK, S. O.; HAHN, S. M.; HAMBLIN, M. R.; JUZENIENE, A.; KESSEL, D.; KORBELIK, M.; MOAN, J.; MROZ, P.; NOWIS, D.; PIETTE, J.; WILSON, B. C.; GOLAB, J.** Photodynamic therapy of cancer: An update. *CA: A cancer Journal for Clinicians*, 2011, 61(4), s. 250-281.
- ALLEN, C. M.; SHARMAN, W. M.; LIER, J. E.** Current status of phthalocyanines in the photodynamic therapy of cancer. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2011, 5(2), s. 161-169.
- ALLISON, R. R.; SIBATA, C. H.** Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2010, 7, s. 61-75.
- AZZOUZI, A. R.; BARRET, E.; MOORE, C. M.; VILLERS, A.; ALLEN, C.; SCHERZ, A.; MUIR, G.; WILDT, M.; BARBER, N. J.; LEBDAI, S.; EMBERTON, M.** Tookad Soluble vascular-targeded photodynamic (VTP) therapy: determination of optimal treatment conditions and assessment of effects in patient with localised prostate cancer. *BJU international*, 2013, 112(6), s. 766-774.
- AZZOUZI, A. R.; LEBDAY, S.; BENZAGHOU, F.; STIEF, CH.** Vascular-targed photodynamic therapy with TOOKAD<sup>®</sup>. Soluble in localized prostate cancer: standardization of the procedure. *World J Urol*, 2015, 33, s. 937-944.

**BETROUNI, N.; LOPES, R.; PUECH, P.; COLIN, P.; MORDON, S. A** model to estimate the outcome of prostate cancer photodynamic therapy with TOOKAD soluble WST11. *Physics in Medicine and Biology*, 2011, 56(15), s. 4771-4783.

**BINDER, S.; KOLAROVA, H.; TOMANKOVA, K.; BAJGAR, R.; DASKOVA, A.; MOSINGER, J.** Phototoxic effect of TPPS4 and MgTPPS4 on DNA fragmentation of HeLa cells. *Toxicol In Vitro*, 2011, 26(6), s. 1169-1172.

**CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R.** Mechanism in photodynamic therapy: part one - photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2004, 1(4), s. 279-293.

**DIASPRO, A.; CIRICO, G.; USAI, C.; RAMOINO, P.; DOBRUCKI, J.** Photobleaching. *Handbook of Biological Confocal Microscopy*, 2006, 690-702 [cit. 2016-04-27]. Dostupné z:

<http://wwwuser.gwdg.de/~uboehm/images/39.pdf>.

**DOUGHERTY, T. J.; GOMER, CH. J.; HENDERSON, B. W.; JORI, G.; KESSEL, D.; KORBELIK, M.; MOAN, J.; PENG, Q.** Photodynamic therapy. *Journal of the National Cancer Institute*, 1998, 90(12), s. 889-905.

**FDA.GOV.** *Food and Drug Administration*: Clinical review of NDA 21-119/S-003 [online]. Poslední revize 2001-10-25 [cit. 2016-04-29]. Dostupné z:

[http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2002/21-119%20S-003\\_Visudyne\\_Medr.PDF](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2002/21-119%20S-003_Visudyne_Medr.PDF).

**HOPPER, C.** Photodynamic therapy: a clinical reality in the treatment of cancer. *The Lancet Oncology*, 2000, 1, s. 212-219.

**HUANG, Y.; XU, G.; PENG, Y.; LIN, H.; ZHENG, X.; XIE, M.** Photodynamic therapy in choroidal neovascularization. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 2007, 23(4), s. 377-386.

**CHEN, Z.; ZHANG, Y.; WANG, D.; LI, L.; ZHOU, S.; HUANG, J. H.; CHEN, J.; HU, P.; HUANG, M.** Photodynamic antimicrobial chemotherapy using zinc phthalocyanine derivatives in treatment of bacterial skin infection. *Journal of Biomedical Optics*, 2016, 21(1).

**JOSEFSEN, L. B.; BOYLE, W.** Photodynamic therapy and the development of metal-based photosensitisers. *Hindawi Publishing Corporation*, 2008, 276109, s. 1-24.

**KULBACKA, J.; LAMCH, L.; PIETKIEWICZ, J.; ROSSOWSKA, J.; DUBINSKA-MAGIERA, M.; CHOROMANSKA, A.; WILK, K. A.**

Preparation and characterization of new zinc(II) phthalocyanine – containing poly(I-lactide)-b-poly(ethylene glycol) copolymer micelles for photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B.*, 2016, 160(16), s. 185-197.

**MACDONALD, I. J.; DOUGHERTY, T. J.** Basic principles of photodynamic therapy. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2001, 5, s. 105-129.

**MAKHSEED, S.; MACHACEK, M.; ALFADLY, W.; TUHL, A.; VINODH, M.; SIMUNEK, T.; NOVAKOVA, V.; KUBAT, P.; RUDOLF, E.; ZIMCIK, P.** Water-soluble non-aggregating zinc phthalocyanine and in vitro studies for photodynamic therapy. *Chem Commun (Camb)*, 2013, 49(95), s. 11149-51.

**MELUŠOVÁ, M.; PANIK, M.; JANTOVÁ, S.** Nové 4-anilínchinazolínové deriváty jako potenciálne fotosenzitizéry pre fotodynamickú terapiu. *Preveda* [online]. 2015 [cit. 2016-05-09]. Dostupné z:

<http://www.preveda.sk/conference/article/id=1243/>.

**MITTON, D.; ACKROYD, R.** A brief overview of photodynamic therapy in Europe. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2008, 5, s. 103-111.

**NANASHIMA, A.; ABO, T.; NONAKA, T.; NONAKA, Y.; MORISAKI, T.; UEHARA, R.; OHNITA, K.; FUKUDA, D.; MURAKAMI, G.; TOU, K.; KUNIZAKI, M.; HIDAKA, S.; TSUCHIYA, T.; TAKESHITA, H.;**

**NAKAO, K.; NAGAYASU, T.** Photodynamic therapy using talaporfin sodium (Laserphyrin<sup>®</sup>) for bile duct carcinoma: A preliminary clinical trial. *Anticancer Research*, 2012, 32, s. 4931-4938.

**NATIONAL CANCER INSTITUTE.** Photodynamic therapy for cancer [online] Poslední revize 2015-02-09 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/surgery/photodynamic-fact-sheet>.

**NATIONAL CANCER INSTITUTE.** What is cancer [online]. Poslední revize 2015-02-09 [cit. 2016-04-29]. Dostupné z: [www.cancer.gov/about-cancer/what-is-cancer](http://www.cancer.gov/about-cancer/what-is-cancer).



- ORMOND, A. B.; FREEMAN, H. S.** Dye sensitizers for photodynamic therapy. *Materials*, 2013, 6(3), s. 817-840.
- PHOTOFRIN.COM.** PDT with Photofrin®: What is PDT with Photofrin [online]. Poslední revize 2011-06 [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: <http://www.photofrin.com/patient-information/>.
- RADIOBIOLOGIE.** Poškození DNA [online]. [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: <http://fbmi.sirdik.org/9-kapitola/95/951.html>.
- REJTHAR, A.; VOJTĚŠEK, B.** *Obecná patologie nádorového růstu*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, spol. s.r.o., 2002. 208 s. ISBN 80-247-0238-X.
- SILBERNAGL, S.; LANG, F.** *Atlas patofyziologie*. 2. vydání. Praha: Grada Publishing, spol. s.r.o., 2012. 416 s. ISBN 978-80-247-3555-9.
- SOUZA, T. D.; ZIEMBOWICZ, F. I.; MÜLLER, D. F.; LAUERMAN, S. C.; KLOSTER C. L.; SANTOS, R. C.; LOPES, L. Q.; OURIQUE, A. F.; MACHADO, G.; VILLETTI, M. A.** Evaluation of photodynamic activity, photostability and in vitro drug release of zinc phthalocyanine-loaded nanocapsules. *Eur J Pharm Sci*, 2016, 83, s. 88-98.
- SRIDHARAN, G.; SHANKAR, A. A.** Toluidine blue: A review of its chemistry and clinical utility. *J Oral Maxillofac Pathol*, 2012, 16(2), s. 251-255.
- ŠÍPEK, A.** Genetika-biologie: Váš zdroj informací o genetice a biologii [online]. Poslední revize 2014-09-24 [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: <http://www.genetika-biologie.cz/mutageny>.
- TARATULA, O.; DODDAPANENI, B. S.; SCHUMANN, C; LI, X.; BRACHA, S.** Naftalocyanine-based biodegradable polymeric nanoparticles image-guided combinatorial phototherapy. *Chem. Mater.*, 2015, s. 27(17).
- TITA, S. P. S.; PERUSSI, J. R.** The effect of porphyrins on normal and transformed mouse cell lines in the presence of visible light. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2001, 34, s. 1331-1336.
- TOMANOVÁ, P.; JURÁŠEK, M.** Konjugáty porfyrinů. *Chemické Listy*, 2014, 108, s. 843-852.
- VALINSKY, J. E.; EASTON, T. G.; REICH, E.** Merocyanine 540 as a fluorescent probe of membranes: selective staining of leukemic and immature hemopoietic cells. *Cell*, 1978, 13(3), s. 487-499.

- WILSON, B. C.** Photodynamic therapy for cancer: Principles. *Can J Gastroenterol*, 2002, 16(6), s. 393-396.
- YANO, S.; HIROHAR, S.; OBATA, M.; HAGIYA, Y.; OGURA, S.; IKEDA, A.; KATAOKA, H.; TANAKA, M.; JOH, T.** Current states and future views in photodynamics therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 2011, 12, s. 46-67.
- ZIMČÍK, P.; MILETÍN, M.** Fotodynamická terapie jako nová perspektivní metoda léčby nádorových onemocnění, I. Historie, základní princip. *Česká a slovenská farmacie*, 2004, 53, s. 219-224.
- ZIMČÍK, P.; MILETÍN, M.** Fotodynamická terapie jako nová perspektivní metoda léčby nádorových onemocnění II. Přehled fotosenzitizérů. *Česká a Slovenská Farmacie*, 2004, 53(6), s. 271-279.
- ZIMČÍK, P.; MILETÍN, M.** Photodynamic therapy. In: Lang, A. R. (ed.) *Dyes and Pigments: New research*, New York: Nova Science Publishers, Inc., 2009, s. 1-62.
- ZIMČÍK, P.** Azaftalocyaniny – od syntéz přes fotochemické a fotofyzikální vlastnosti k aplikacím. *Chemické Listy*, 2012, 106, s. 275-282.