

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biochemických věd

FOTOSENZITIZÉRY POUŽÍVANÉ
V KLINICKÉ PRAXI

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Miloslav Macháček, Ph.D.

V Hradci Králové 2017

Monika Steklá

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu své bakalářské práce Mgr. Miloslavu Macháčkovi, Ph.D. za jeho odbornou pomoc a cenné připomínky při vzniku této práce, ale především za jeho ochotu a trpělivost. Také bych chtěla poděkovat své rodině a blízkým za jejich podporu během celého studia.

Hradec Králové 2017

Monika Steklá

„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 2017

.....

1 Obsah

2	Úvod.....	6
3	Seznam zkratek	7
4	Fotodynamická terapie.....	8
4.1	Historie PDT.....	8
4.2	Mechanismus PDT	9
4.3	Praktické využití PDT	10
5	Fotosenzitizéry.....	11
5.1	Požadované vlastnosti.....	12
5.2	Rozdělení.....	12
5.2.1	Syntetická čistota.....	12
5.2.2	Cílení	13
5.3	Generace fotosenzitizérů	13
5.4	První generace	13
5.4.1	Photofrin®.....	14
5.5	Druhá generace	15
5.5.1	Kyselina 5-aminolevulová.....	15
5.5.2	Deriváty ALA.....	16
5.5.3	Chloriny.....	16
5.5.4	Deriváty benzoporphyrinu, Verteporfin.....	17
5.5.5	Photochlor®.....	18
5.5.6	Temoporfin.....	18
5.5.7	Purtilyn®	20
5.5.8	Talaporfin	20
5.5.9	Texafyriny	21
5.5.10	Ftalocyaniny	21

5.6	Neporfyrinové fotosenzitizéry	23
5.6.1	Antrachinony	23
5.6.2	Fenothiaziny	24
5.6.3	Cyaniny.....	25
5.6.4	Xanteny.....	26
5.6.5	Kurkuminoidy.....	26
5.7	Třetí generace fotosenzitizérů	27
6	Závěr	28
7	Citovaná literatura.....	29

2 Úvod

Téma „Fotosenzitizéry používané v klinické praxi“ jsem si vybrala, protože mě zaujala tematika nových možností v léčbě nádorových onemocnění. Jelikož se jedná o velmi častou příčinu úmrtí, je po celém světě vynaloženo velké úsilí o rozvoj nových léčebných a diagnostických postupů. Jednou z relativně nových možností léčby, ale i diagnostiky, je fotodynamická terapie. Výhodou této léčby je selektivní působení pouze na nádorovou tkáň a nízká toxicita léčby pro okolní tkáň. Jejím vedlejším účinkem však může být vznik kožní fotosenzitivity, jejíž délka záleží na použitém fotosenzitizéru. Pro účinnost této léčby je tak důležitý i výběr vhodného fotosenzitizéru. Ve své práci jsem se tedy pokusila zpracovat přehled klinicky používaných fotosenzitizérů spolu s dalšími, které jsou zatím ve fázi klinického testování, ale mají velmi slibné výsledky.

3 Seznam zkratek

$^1\text{O}_2$	– kyslík v singletovém stavu
$^3\text{O}_2$	– kyslík v tripletovém stavu
ALA	– kyselina 5-aminolevulová
AlPcS4	– hlinitý ftalocyanin tetrasulfonát
BPD	– deriváty benzoporphyrinu
FDA	– food and drug association
HALA	– n-hexyl ester kyseliny aminolevulové
HpD	– Hematoporphyrin Derivative
HPD	– highly-purified hematoporphyrin
HPPH	– 2-[1-hexyloxyetyl]-2-devinylpyropheophorbide
HSP	– heat-shock protein
i.v.	– intravenózní podání
IR	– Infračervené záření
MALA	– metyl ester kyseliny aminolevulové
m-THPC	– meta-tetra(hydroxyfenyl)chlorin
NP1/NP2	– Hypocrelin A/B
PC	– ftalocyaniny
PDT	– fotodynamická terapie
PpPIX	– protoporphyrin IX
PS	– fotosenzitizér
ROS	– reaktivní kyslíkové formy

4 Fotodynamická terapie

Fotodynamickou terapii (PDT) můžeme definovat jako podávání léčiva, kterému v tomto kontextu říkáme fotosenzitizér (PS), následované jeho ozářením viditelným světlem, obvykle červeným s dlouhou vlnovou délkou, v přítomnosti kyslíku (Castano et al., 2004).

PDT je klinicky schválená, minimálně invazivní terapeutická procedura, která může vyvíjet selektivní cytotoxickou aktivitu vůči nádorovým buňkám. Tato procedura využívá aplikaci PS následovanou ozářením o vlnové délce odpovídající absorpčnímu pásu PS. PDT se tedy skládá ze tří základních komponent. Jedná se o PS, světlo a molekulární kyslík ($^3\text{O}_2$). Pokud se tyto látky vyskytují samostatně, nejsou pro tělo toxické. Společně však vyvolávají vznik fotochemické reakce, při které vzniká především singletový kyslík ($^1\text{O}_2$). Jeho výrazná toxicita vede ke smrti buňky skrze programovanou buněčnou smrt nebo nekrózu. Protinádorový efekt PDT je založen na třech základních mechanismech: přímý cytotoxický efekt na nádorové buňky, destrukce mikrocirkulace v nádoru a vzniku zánětlivé reakce, která může vést k rozvoji systémové imunitní reakce. PDT je dvoustupňový proces. V první fázi dojde k aplikaci neaktivního PS, poté následuje jeho ozáření světlem s vhodnou vlnovou délkou, a tím k jeho aktivaci (Agostinis et al., 2011).

4.1 Historie PDT

Myšlenka léčby kombinací slunečního záření a chemického agens pochází již ze starověku. Před více než 3000 lety se ve starověkém Egyptě a Indii využívala prvotní fotochemoterapie k léčbě vitiliga repigmentací za použití psoralenů v kombinaci se slunečním zářením. Terapeutický efekt samotného slunečního záření se využíval před více než 5000 lety v Egyptě, Číně, Indii a později i Řecku – tomuto typu léčby bez využití PS říkáme fototerapie (Celli et al., 2010).

Ve Francii v 18. a 19. století se sluneční záření užívalo k léčbě různých obtíží. Patřily k nim například tuberkulóza, rickettsie, kurděje, svalová slabost, revma, paralýza, edémy a další. Fototerapie byla blíže prozkoumána až na konci 19. století dánským fyzikem Nielsem Finsenem, který popsals úspěšnou terapii neštovic pomocí červeného světla. Později se zabýval léčbou kožního typu tuberkulózy ultrafialovým zářením a objevil účinky fototerapie

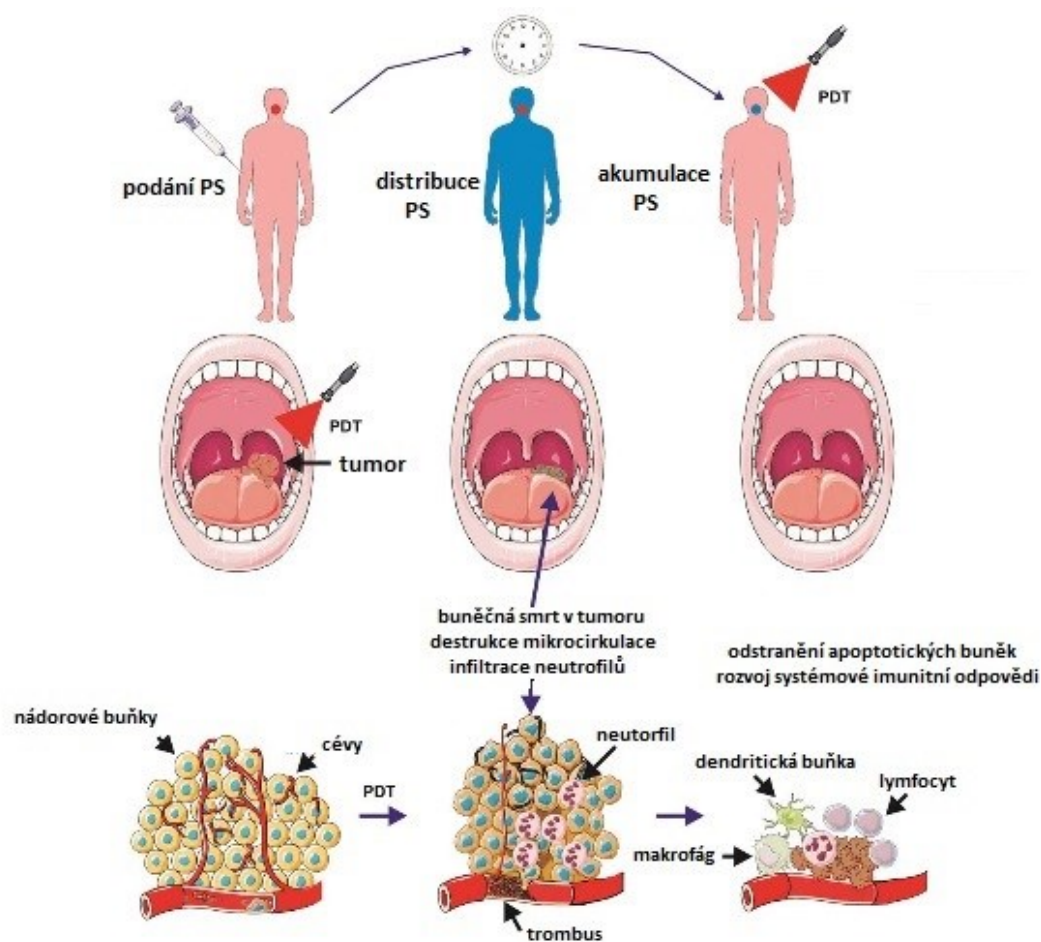
karbonovým obloukem. Za tento objev také obdržel v roce 1903 Nobelovu cenu (Ackroyd *et al.* 2001).

PDT, jak ji známe dnes, je spojována s pozorováním Oscara Raaba na začátku 20. století. Ten zjistil, že akridinová oranž působí letálně na prvoky rodu *Paramecium* (trepky) v přítomnosti slunečního záření. Pojem fotodynamická reakce v souvislosti s tkáňovou reakcí závislou na kyslíku následující po ozáření poprvé použil Hermann von Tappeiner, vedoucí Institutu Farmakologie na Univerzitě v Mnichově. Dnes už je dobře známo, že PDT vyžaduje současnou přítomnost PS, záření a kyslíku uvnitř léčené tkáně. PS se nahromadí v cílových buňkách a absorbují záření o určité vlnové délce odpovídajících jejich absorpčním maximům. Energie se přesune na kyslík za tvorby reaktivních forem kyslíku (ROS). Jedná se především o $^1\text{O}_2$. Léčba pomocí PDT vede k poškození až zničení buněk a aktivaci mediátorů zánětu. Nižší dávky světla vyvolávají imunomodulační efekt, čehož se využívá při léčbě zánětlivých onemocnění (Sidoroff, 2014).

4.2 Mechanismus PDT

Na rozdíl od chirurgických zákroků, radioterapie nebo chemoterapie, které většinou působí imunosupresivně, PDT způsobuje vznik zánětu, tvorbu HSP (heat-shock protein), invazi a infiltraci leukocytů do nádoru. Tím může dojít ke zvýšení prezentace nádorových antigenů pro T-lymfocyty. PDT má nejen přímý cytotoxický efekt na nádorové buňky, ale působí také na nádorovou mikrocirkulaci. Produkce ROS vede k obstrukci cév, a tím ke kyslíkové a výživové deprivaci nádoru (Gollnick *et al.*, 2006).

Foto-oxidativní poškození způsobené PDT způsobí buněčnou smrt pravděpodobně kombinací následujících dvou mechanismů. Podle mechanismu typu I fotoexcitované PS reagují s biomolekulami předáním elektronu nebo cestou přesunu vodíku. Radikály nebo jejich ionty vytvořené v tomto kroku snadno reagují s $^3\text{O}_2$ za vzniku peroxyradikálů a jiných ROS, jako je například superoxidový anion radikál, hydroxylový radikál nebo peroxid vodíku. U mechanismu typu II je energie přenášena z PS v tripletovém excitovaném stavu na $^3\text{O}_2$ za vzniku $^1\text{O}_2$ a neradikálových ROS. Ty snadno reagují s mnoha biomolekulami, jako jsou membránové lipidy, proteiny a DNA. Výběr převládajícího mechanismu ovlivňuje mnoho faktorů. Patří mezi ně povaha PS, vlastnosti jeho excitovaného stavu (redoxní potenciál, buněčná lokalizace, energie, atd.), koncentrace cílových molekul a $^3\text{O}_2$ v okolí (Stockert *et al.*, 2007).



Obrázek 1 Mechanismus PDT (Agostinis et al., 2011).

Efektivita PDT závisí na rozdílu fyziologických a fyzikálně-chemických vlastností a částečně i na počtu fotonů absorbovaných PS na jednotku objemu tkáně. Nekrotická smrt nádoru může nastat tehdy, když počet absorbovaných fotonů překračuje takzvaný práh poškození (Ochsner, 1997).

Důležitou vlastností PDT je potenciál pro dvojí selektivitu, tj. přednostní kumulace PS v nemocných tkáních a zaměření ozařování pouze na zničení cílových buněk. PDT je relativně neinvazivní metoda a terapii je možné opakovat bez rizika vzniku rezistence (Kamkaew et al., 2013).

4.3 Praktické využití PDT

PDT je možné využít nejen terapeuticky, ale také diagnosticky při lokalizaci nádorů. Po ozáření tkání, které obsahují porfimer sodný nebo jiné PS, dochází ke vzniku excitovaného stavu molekul. Ty se mohou zbavit přebytečné energie fluorescencí, která výrazně pomáhá

při lokalizaci tumoru. Zároveň také probíhá konkurenční reakce, tedy již zmíněný přesun energie na $^3\text{O}_2$ rozpuštěný ve tkáních a vznik $^1\text{O}_2$ a dalších ROS (Kessel, 2004).

V klinické praxi jsou PS podávány intravenózně (*i.v.*) nebo lokálně v závislosti na použitém záření a lokalizaci nádoru. Důležitou charakteristikou PS je i takzvaný „drug-light interval“, což je doba mezi podáním PS a ozářením. U v současnosti používaných PS se pohybuje od 5 min do 24 h (i více) v závislosti na použitém PS a léčené chorobě (Celli et al., 2010).

Klinické studie ukázaly, že PDT je vhodná zvláště pro léčbu časných stádií nádorů. Může prodloužit život pacienta s neoperovatelnými nádory a významně zlepšit jejich kvalitu života. Minimální toxicita vůči zdravým tkáním, zanedbatelný systémový efekt, značné snížení morbidit, nedostatek vnitřního nebo získaného rezistenčního mechanismu a výborné zachování kosmetických i orgánových funkcí jsou důvodem, proč je PDT vhodnou volbou pro kombinovanou léčbu. S mnoha novými technologickými postupy má PDT potenciál pro zařazení mezi hlavní způsoby terapie nádorových onemocnění (Agostinis et al., 2011).

Účinnost PDT na solidní nádory je však limitována několika faktory. Jde o nedostatečnou selektivitu většiny PS, špatnou rozpustnost ve vodném prostředí, sebedestrukci PS při ozáření světlem a zastavení produkce $^1\text{O}_2$ během těžké lokální hypoxie způsobené vyčerpáním $^3\text{O}_2$ z tkání a narušením krevní cirkulace v nádoru. Slibným řešením pro dosažení vyšší protinádorové účinnosti je kombinace PDT s jinou metodou – například fototermální terapie (Lin et al., 2013).

5 Fotosenzitizéry

Velmi důležitou složkou pro správné fungování PDT je správný PS. Ideální PS by měl splňovat následující kritéria. Musí působit specificky na cílové buňky, musí mít vysokou fotochemickou reaktivitu (což znamená, že efektivně produkuje ROS, když je vystaven vhodnému záření), dále je málo toxický v absenci záření a je excitovaný vlnovou délkou v oblasti, kde je maximální penetrace tkáně zářením (Zhang et al., 2007).

PS jsou tedy látky schopné absorbovat záření se specifickou vlnovou délkou a přeměnit ho na užitečnou energii. V případě PDT to znamená produkci letálních cytotoxických látek. Existují stovky přírodních i syntetických barviv, která mohou fungovat jako PS. Řadíme sem celou řadu sloučenin od přírodních rostlinných produktů až po komplexní syntetické

makrocykly. Každý PS je charakterizován svou schopností přednostně se ukládat v nemocných tkáních, v nich tvořit cytotoxické látky a tím indukovat požadovaný biologický efekt (Sharman et al., 1999).

PS nejsou omezeny pouze na tvorbu $^1\text{O}_2$. Mnoho PS obsahuje fluorofory, které mají sklon emitovat záření v části spektra blízké infračervené oblasti, což je užitečné pro jejich detekci *in vivo*. Fluorescenčně detekovatelné PS nám napomáhají při definování a nastavení parametrů během léčby PDT (Lovell et al., 2010).

5.1 Požadované vlastnosti

Pro fotodynamický proces je velmi důležitá distribuce PS a ta je ovlivněna jeho chemickou strukturou. Je zvláště žádané, aby byl PS amfifilní, rozpustný ve vodě, ale s obsaženou hydrofobní matricí, která usnadní přechod přes buněčnou membránu. Výhodná je také omezená stabilita *in vivo*, která umožňuje jeho rychlé odstranění ze zdravých tkání. Absorpce v červené oblasti viditelného světla s vysokým extinkčním koeficientem je podstatným kritériem pro zvýšení počtu absorbovaných fotonů a zvyšuje hloubku penetrace světla do tkání při delších vlnových délkách. Navíc absorpční pás PS by se neměl překrývat s absorpčními pásy ostatních chromoforů přítomných ve tkáni (DeRosa & Crutchley, 2002).

5.2 Rozdělení

PS mohou být klasifikovány mnoha způsoby s různými omezeními. Můžeme je dělit podle generace, syntetické čistoty, cílení nebo chemické struktury. Pravděpodobně nejlepší klasifikace klinicky používaných PS je podle toho, jak účinkují. Dalším důležitým kritériem je jejich toxicita před aktivací a komerční dostupnost, aby je mohli užívat pacienti (Allison & Sibata, 2010).

5.2.1 Syntetická čistota

Tato klasifikace naznačuje, že PS složené z několika komponent jsou nějakým způsobem méně kvalitní než čisté látky. Ačkoli toto kritérium je důležité pro syntetické chemiky a farmaceuty hledající výrobu čistých a plně definovaných látek, nedá se říct, že by se jednalo o klinicky méně účinné PS (Allison & Sibata, 2010).

5.2.2 Cílení

Některé PS se přednostně ukládají v různých typech tkáně, zatímco jiné zůstávají v cévním systému. Dále můžeme PS dělit podle cílení na buněčné komponenty, jako jsou buněčné membrány, mitochondrie apod. (Allison & Sibata, 2010).

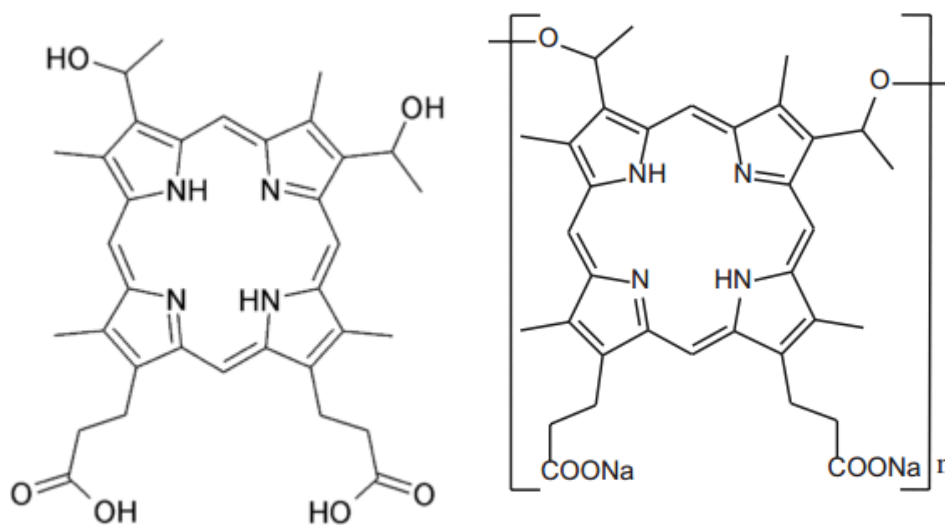
5.3 Generace fotosenzitizérů

PS lze rozdělit do tří generací. První generace PS je odvozena od porfyrinu a zahrnuje hematoporfyrin a jeho deriváty souhrnně označované jako HpD. Druhá generace byla vyvinuta na základě nedostatků PS první generace. PS této generace mají různé struktury včetně porfyrinů, rozšířených porfyrinů, derivátů chlorofylu a jiných barviv. Třetí generace zahrnuje PS první a druhé generace konjugované s cílicími strukturami, jako jsou například protilátky nebo nosičové systémy (např. nanočástice) (Allison & Sibata, 2010, Connor et al., 2009).

5.4 První generace

Do první generace PS patří deriváty hematoporfyrinu – Photofrin®. Jedná se o nejčastěji a nejdéle používaný PS v klinické praxi (Sharman et al., 1999).

Pro účinnou terapii je nutno podávat relativně velké dávky a je zde riziko nežádoucích účinků v podobě dlouhodobě zvýšené fotosenzitivity, jelikož se hromadí kromě nádorů i v kůži. Jejich největší nevýhodou je jejich absorpční maximum při nízkých vlnových délkách (400-630nm). Světlo s touto vlnovou délkou nedokáže pronikat hluboko do tkání (Nyman & Hynninen, 2004).



Obrázek 2 Struktura Hematoporphyrinu a Photofrinu (zleva).

5.4.1 Photofrin®

Photofrin®, známý také jako porfimer sodný, je přečištěný derivát hematoporphyrinu s absorpčním maximem při 630nm a s nízkým molárním extinkčním koeficientem. Proto je pro zničení nádoru třeba vysoká koncentrace Photofrinu® a záření. Photofrin® má také mimořádně dlouhý poločas rozpadu způsobující dlouhotrvající kožní fotosenzitivitu. Pro terapeutické účely se podává *i.v.* (Connor et al., 2009).

Tento fotosenzitizér byl uveden do klinické praxe pro terapii časných i pozdních stádií nádorů plic, povrchových i pokročilých nádorů jícnu, nádorů močového měchýře, časného stádia karcinomu žaludku, časného stádia karcinomu děložního čípku a cervikální dysplazie. Kromě toho je studováno jeho možné využití k léčbě např. Kaposiho sarkomu, nádorů hlavy a krku, mozku, prsu, střeva nebo kůže. Slibné jsou také výsledky klinických studií zabývajících se jeho využitím v léčbě Barrettova jícnu, lupenky nebo arteriální restenózy. Jedná se o první fotosenzitizér uvedený do klinické praxe. (Sharman et al., 1999).

5.5 Druhá generace

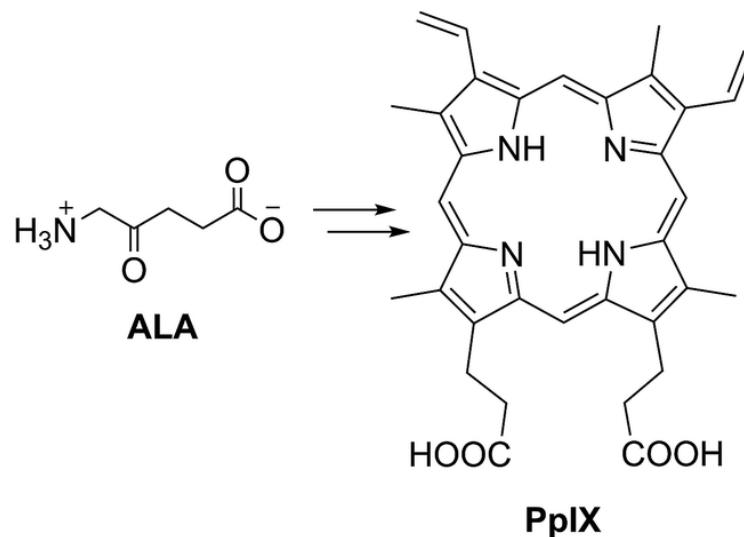
Druhá generace PS byla vyvinuta na základě nedostatků té předchozí. Na rozdíl od PS první generace mají novější látky absorpční maximum při vyšších vlnových délkách (660-800nm), což umožňuje lepší průnik světla do tkáně. Další výhodou je jejich rychlejší eliminace z oběhu a kůže. Není zde tedy nutné pacienta dlouhodobě chránit před slunečním zářením – zabránění zvýšené fotosenzitivitě po podání léku (Kessel, 2004).

PS používané v klinických studiích se dělí do několika skupin. Jedná se o porfyriny, ftalocyaniny, texafyriny, chloriny a bakteriochloriny. Díky svým vlastnostem se hodí pro použití v PDT. Důležitá je jejich schopnost účinně vytvářet $^1\text{O}_2$, dále jejich stabilita, schopnost absorbovat světlo s dlouhou vlnovou délkou a nízká toxicita v nepřítomnosti světla (Nyman & Hynninen, 2004).

5.5.1 Kyselina 5-aminolevulová

Další z fotosenzitizérů používaných v klinické praxi je ALA. Jedná se o proléčivo, které je enzymaticky přeměněno na aktivní formu, protoporfyrin IX (PpIX), *in vivo*. Po podání dochází k přeměně ALA na PpIX, který se ukládá ve formě hemu. Přeměna na hem je však limitována, a toho také využívá PDT. Díky této limitaci totiž dochází ke hromadění PpIX, tedy aktivního PS v nádorové tkáni. ALA může být podávána orálně, *i.v.* i lokálně (Allison & Sibata, 2010).

Nejvyšší koncentrace PpIX v nádoru je 1 – 6 hodin po systémovém podání ALA. Používá se v lokální i systémové aplikaci pro terapii kožních nádorů, ale i pro diagnostické hodnocení nádorů kůže, gastrointestinálního traktu, močového měchýře a plic. Pro vyvolání léčebných účelů jsou nicméně potřebné poměrně vysoké koncentrace ALA. Kvůli její hydrofilítě také těžko proniká do větších nádorů, proto jsou experimentálně zkoumány také její lipofilnější deriváty, například methyl-, ethyl-, propyl-, hexyl-, heptyl- či oktyl- estery (Peng et al., 1997).



Obrázek 3 Struktura ALA a PpIX.

5.5.2 Deriváty ALA

5.5.2.1 Methyl ester kyseliny aminolevulové

Methylaminolevulát (MALA) dostupný pod názvy Metvix[®] a Metvixia[®] byl FDA zaveden do praxe v roce 2004 pro terapii aktinické keratózy. Pod obchodním názvem Metvixia[®] se používá také pro lokální terapii. Jeho výhodou je použití efektivního zdroje emitujícího záření o vlnové délce 630nm, což umožňuje hlubší proniknutí do tkáně. Zkoumá se také jeho využití pro terapii acne vulgaris (Ormond & Freeman, 2013).

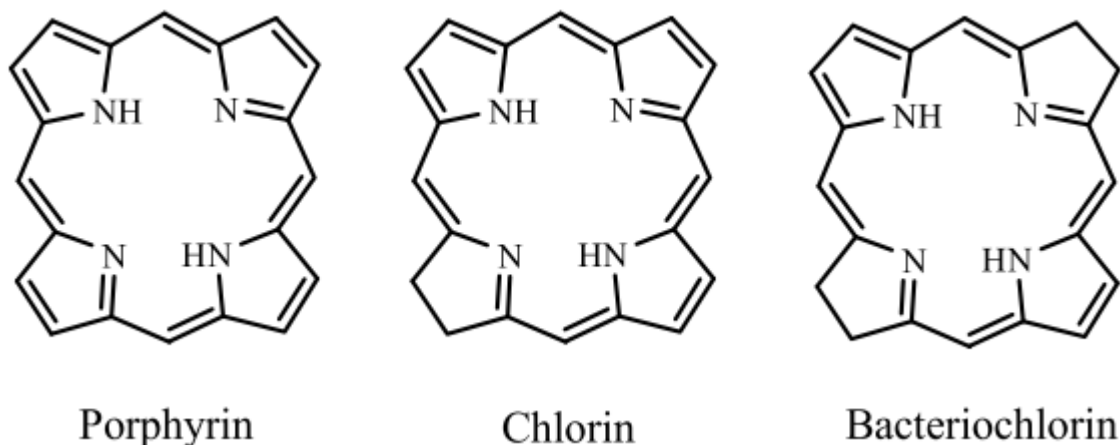
5.5.2.2 Hexaminolevulát

N-hexyl ester kyseliny aminolevulové (HALA) byl zaveden na trh americkou FDA pod obchodními názvy Hexvix[®] a Cysview[®] v roce 2010 pro diagnostiku karcinomu močového měchýře. Mechanismus jeho účinku je podobný jako u ALA – také se mění na PpIX, ovšem asi 50-100× efektivněji. Zkoumá se také jeho účinek například pro terapii intraepiteliální neoplazie děložního čípku (Ormond & Freeman, 2013).

5.5.3 Chloriny

Chloriny jsou strukturálně podobné porfyrinům. Liší se od nich tím, že mají na jednom z pyrolových kruhů dva vodíky navíc oproti porfyrinům. Tato malá změna vede k bathochromnímu posunu absorpce. Další podobnou strukturou jsou i bakteriochloriny,

kteří mají redukovanou další dvojnou vazbu na pyrolovém kruhu chlorinů. Chloriny tak absorbují záření o vlnové délce 640-700 nm. Do této skupiny patří verteporfin, temoporfin, rostoporfin a talaporfin (Ormond & Freeman, 2013, Detty et al., 2004).

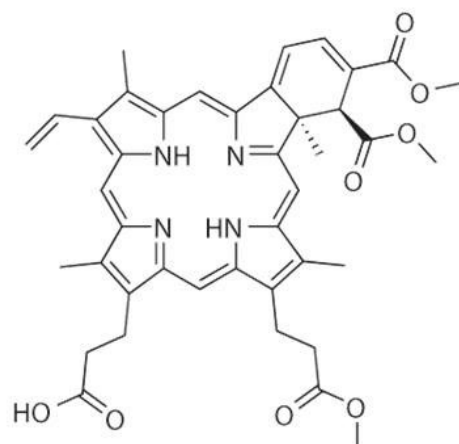


Obrázek 4 Rozdíly ve strukturách porfyrinů, chlorinů a bakteriochlorinů.

5.5.4 Deriváty benzoporfyrinu, Verteporfin

Mezi deriváty benzoporfyrinu (BPD) patří verteporfin, který je klinicky používán v kombinaci s liposomy. Absorbance při 690 nm umožňuje hlubší proniknutí do tkáně, navíc se rychle kumuluje a následně eliminuje z tkání, díky tomu způsobuje minimální fotosenzitizaci kůže. Obecně dosahuje léčebných koncentrací 15-30 minut po injekčním podání. Bylo zjištěno, že klinická odpověď na verteporfin je způsobena narušením a uzavřením cév. Z tohoto důvodu je ideální pro léčbu lézí založených na neovaskularizaci (Allison et al., 2004).

Verteporfin se používá po celém světě k léčbě věkem podmíněné makulární degenerace, onemocnění vedoucí ke slepotě v důsledku neovaskularizace a krvácení. Vykazuje také dobré výsledky při léčbě očního astrocytomu, choroidálního melanomu a různých kožních malignit. Jelikož mnoho lidských nádorů, zvláště zhoubných, je založeno na neovaskularizaci, zkoumá se i jeho další využití (Allison & Sibata, 2010).



Obrázek 5 Struktura Verteporfinu.

5.5.5 Photochlor®

Tento chlorinový derivát 2-(1-hexyloxyethyl)-2-devinylpyrofeoforbid (HPPH) byl nejslibnější ze 400 testovaných PS v kvantitativní strukturní aktivitě. Toto lipofilní léčivo v podstatě není metabolizováno a je pomalu odstraňováno z plazmy. Aktivační vlnová délka je 665 nm nebo 408 nm. Proto je možné použít povrchové i hluboké osvětlení (Allison & Sibata, 2010).

Léčivo je podáváno *i.v.* s minimální toxicitou. Efekt se dostavuje již při dávce 0,15 mg/kg. U pacientů se může objevit zvýšená fotosenzitivita trvající několik dní. Její délka závisí na podané dávce (Ormond & Freeman, 2013).

HPPH se uplatňuje v léčbě přirozeně se vyskytujících nádorů psů a koček. Kromě toho probíhají i klinické studie jeho využití při léčbě rakoviny jícnu nebo plic a kožních lézí u člověka (Allison & Sibata, 2010).

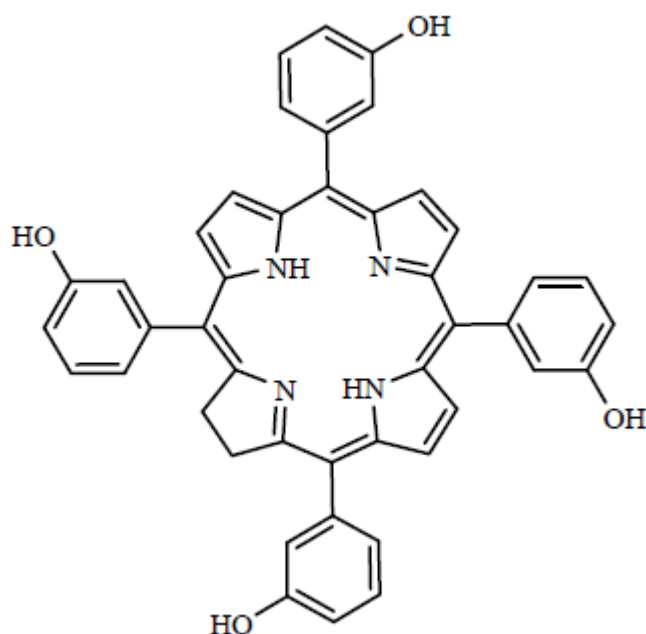
5.5.6 Temoporfin

Temoporfin patří do rodiny chlorinů a je na trhu znám také pod názvem Foscan®. Tento přípravek má mnoho klinicky výhodných charakteristik, které však mohou mít i potenciální nevýhody. Podání léku se provádí nitrožilně a je spojeno s bolestivou reakcí.

Podává se v dávce 0,15 mg/kg, což je mnohem menší potřebná dávka v porovnání s Photofrinem[®] (Allison et al., 2004).

Temoporfin (*m*-THPC, Foscan[®], Foslip[®]) lze připravit redukcí na jednom pyrolovém kruhu *m*-tetra(hydroxyfenyl)porfyrinu. Tento PS byl schválen v Evropě pro terapii nádorů krku a pokožky hlavy. Dnes se také úspěšně používá pro léčbu nádorů prsu, prostaty nebo slinivky břišní, ale také jako podpůrná terapie po chirurgickém odstranění nádoru. Je velmi efektivně aktivován světlem o vlnové délce 652 nm a pro terapii stačí podávat malé dávky. Nevýhodou je, že u některých pacientů vyvolává závažnou kožní fotosenzitivitu. Mezi výhody použití tohoto PS tedy patří nízké dávky léku i světla dostačující pro terapii. Nevýhodou však je fotosenzitizace pacientů na delší dobu, přibližně 20 dní (Ormond & Freeman, 2013).

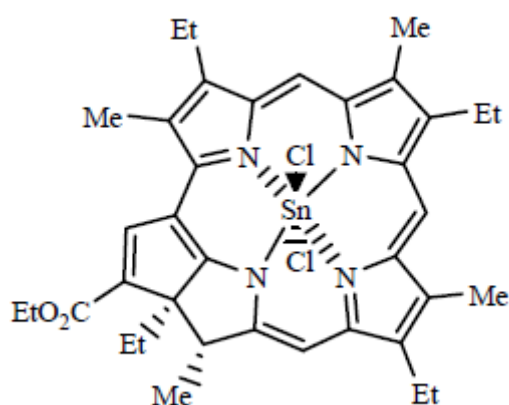
Léčba je velmi efektivní a její délka velmi krátká. Může však docházet k nežádoucímu pohybu léčiva v organismu z důvodu pohybu pacienta, například dýchání. To může vést k nedostatečné koncentraci léčiva v nádoru, a naopak nadměrné koncentraci v okolních tkáních. Pozornost také musíme věnovat rozptýlení světla například ve slizničních oblastech a následnému nežádoucímu ozáření ostatních tkání. Proto je nutné použít zařízení blokující nežádoucí rozptyl světla a chránící okolní tkáň. Je zajímavé, že zablokování rozptylu světla často trvá déle než celá léčba (Ormond & Freeman, 2013).



Obrázek 6 Struktura Temoporfinu.

5.5.7 Purtilyn®

Cíničitý ethyletiopurpurin neboli Purlytin® je syntetický purpurin vzniklý jako produkt degradace chlorofylu. Centrálně koordinovaný iont cínu zvyšuje posun absorpance k červené oblasti a to až na 660 nm. Lécivo je hydrofilní a často podáváno na vaječném nosiči, z tohoto důvodu je lék kontraindikován u pacientů alergických na vejce. Terapeutická dávka je 1,2 mg/kg, nepatří tedy mezi nejefektivnější PS. Během terapie se mohou vyskytovat bolesti a asi 2 týdny poté ještě zvýšená fotosenzitivita. Klinické studie prokázaly jeho účinnost v terapii kožních nádorů z bazálních buněk, metastází prsního karcinomu v hrudní stěně nebo Kaposiho sarkomu (Allison et al., 2004).



Obrázek 7 Struktura Purtylinu.

5.5.8 Talaporfin

Tento chlorinový derivát je další z klinicky používaných fotosenzitizérů. Ve světě je znám pod různými názvy, například MACE, NPe6, LS11, Laserphyrin®, Litx™, Photolon™ nebo Apoptosin™. Podle výrobce se může měnit složení i struktura, což má také klinický význam. Obecně jsou chloriny vynikající zdroje ¹O₂ a jsou vysoce efektivní. Na úrovni buňky se talaporfin hromadí v lysosomech a co se týče tkáňové distribuce, má podobné vlastnosti jako Photofrin®. Talaporfin je hydrofilní derivát chlorinu absorbující při vlnové délce 664 nm. Osvětlení by mělo být provedeno 2-4 hodiny po podání pro dosažení maximálního efektu. V těle se vyskytuje především v plazmě. Eliminuje se žlučí v játrech, proto je jeho použití problematické u pacientů s onemocněním jater (Allison & Sibata, 2010, Chan et al, 2005).

Pro tento PS byly také vyvinuty miniaturní, přenosné zdroje osvětlení. Toto zařízení se vejde do dlaně. Na jeho konci je flexibilní LED vlákno, které dodává potřebnou energii. Toto vlákno umožňuje dlouhodobé podávání nízkých dávek PDT (Allison & Sibata, 2010).

5.5.9 Texafyriny

Texafyriny jsou syntetické molekuly podobné porfyrinům. Mají v molekule 5 dusíkových atomů, které mohou vázat kovy s větším iontovým poloměrem, jako je lutecium a gadolinium. Texafyriny obsahující kovy mají neobvyklé biologické vlastnosti, proto jsou zajímavé pro PDT (Detty et al., 2004).

Vlastnosti metalotexafyrinů, které jsou důvodem pro jejich oblibu v PDT, zahrnují syntetickou čistotu, rozpustnost ve vodě, absorpce záření blízkého infračervené oblasti a selektivita pro neoplastickou tkáň (Grossweiner et al., 1999).

Tyto látky jsou komerčně dostupné pod různými názvy. Například texafyrin s obsahem gadolinia je znám jako Xcytrin[®]. Jiné texafyriny obsahující lutecium mají několik názvů, například Lu-Tex nebo Optrin[™] pro kožní přípravky či Antrin[®] pro cévní přípravky (Allison et al., 2004).

5.5.10 Ftalocyaniny

Ftalocyaniny (PC) se řadí mezi fotosenzitizéry druhé generace. Jsou to látky strukturálně podobné porfyrinům. Mají široké komerční využití například v textilním, fotografickém nebo elektrickém průmyslu. V posledních letech se také hojně studuje jejich využití v medicíně a PDT (Connor et al., 2009).

PC absorbují velmi silně v červené oblasti světla s absorpčními maximy mezi 670 a 780 nm. Tyto látky jsou snadno připravitelné a rozpustné ve vodě. PC na bázi zinku, hliníku a křemíku jsou velmi účinné generátory ¹O₂ s dlouhotrvajícím tripletovým stavem (Detty et al., 2004).

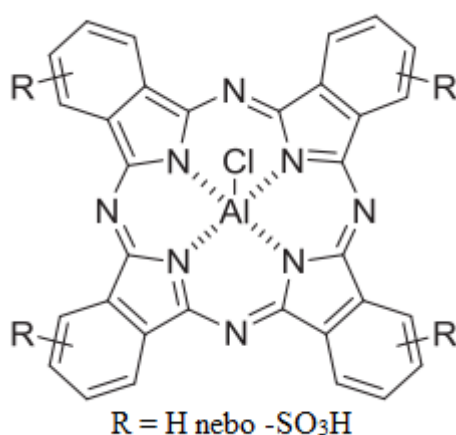
Jelikož tyto látky velmi silně absorbují záření dlouhé vlnové délky, podávají se ve výrazně nižších dávkách v porovnání s HpD. Navíc příliš neabsorbují při vlnových délkách 400-600 nm, proto je zde menší riziko zvýšené fotosenzitivity. Také jejich pohyb v těle je rychlejší, proto dosahují hodnot maximální koncentrace v nádoru již 1-3 hodiny po injekčním

podání. Rychlejší je i jejich eliminace, která trvá přibližně 24 hodin (Nyman & Hynninen, 2004).

5.5.10.1 Sulfonovaný hydroxyhlinitý ftalocyanin

Sulfonovaný hydroxyhlinitý ftalocyanin známější jako Photosens[®] je derivát PC absorbující při 676 nm. Používá se v Rusku pro terapii rakoviny žaludku, kůže, rtu a dutiny ústní nebo prsu. Vyvolává však vznik kožní fototoxicity trvající i několik týdnů (Ormond & Freeman, 2013).

Tato látka má nejvyšší extinkční koeficient ze všech PS druhé generace. Jeho aplikace je podobná jako u Photofrinu[®], ale podávají se mnohem menší dávky léku (0,5-0,8 mg/kg) i světla. Je zkoumán také jeho účinek v terapii rakoviny plic, nosohltanu nebo hrtanu. Ve Švýcarsku také probíhá třetí fáze klinického testování jeho liposomální formulace, která by měla zvýšit tkáňovou selektivitu, pro terapii skvamózních karcinomů (Yano et al., 2011).



Obrázek 8 Struktura sulfonovaného hydroxyhlinitého ftalocyaninu.

5.6 Neporfyrinové fotosenzitizéry

Většina fotosenzitizérů schválených pro klinické použití vychází ze struktury porfyriu. Tyto látky mají sice vynikající účinnost, ale také několik omezujících vlastností. Jde o jejich relativně nízkou fotostabilitu, špatnou rozpustnost ve vodě, závažnou kožní fotosenzitivitu a specifickou (někdy nežádoucí) biodistribuci. Proto probíhá výzkum alternativních látek, jejichž struktura nevyhází z tetrapyrrolového cyklu (Yano et al., 2011).

Vývoj neporfyrinových fotosenzitizérů pro aplikaci v onkologii značně zaostává za fotosenzitizéry na bázi porfyriu a jeho derivátů. Do této skupiny patří různá kationická barviva, jako je například toluidinová nebo methylenová modř. Většina z nich se selektivně hromadí v mitochondriích transformovaných buněk (Connor et al., 2009).

Výhodou těchto sloučenin je jejich rozpustnost ve vodě, absorpce světla vyšších vlnových délek a fotostabilita. Jejich účinnost však zatím není dostačující pro klinické použití. Jelikož se jedná o velmi slibné fotosenzitizéry stále probíhá studium jejich rozvoje (Yano et al., 2011).

5.6.1 Antrachinony

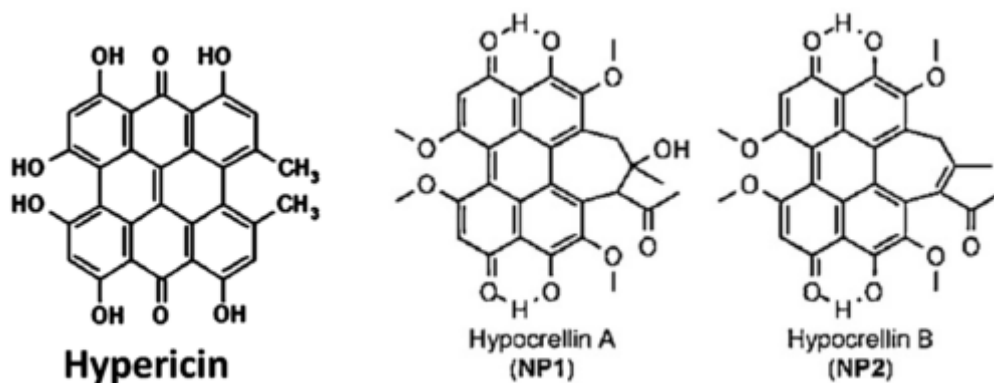
5.6.1.1 Hypericin

Hypericin je přírodní derivát antrachinonu extrahovaný z třezalky tečkované. Je známý pro svou schopnost tvořit ROS, které cíleně ničí nádorové buňky. Hypericin absorbuje při 590 nm. Jeho účinek v PDT je silně závislý na kyslíku, v hypoxickém prostředí se jeho fotocytotoxické vlastnosti neprojeví. Mechanismus účinku spočívá v přímé nádorové cytotoxicitě kombinované s cévním poškozením nádoru. I přes jeho kladné vlastnosti, prováděné studie pro jeho využití v terapii spinocelulárního a bazocelulárního karcinomu zatím nepřinesly uspokojivé výsledky (Ormond & Freeman, 2013, Connor et al., 2009).

5.6.1.2 Deriváty hypocrelinu

Hypocrelin A (NP1) a B (NP2) jsou přirozeně se vyskytující polycyklické chinony izolované z houby *Hypocrella bambuase*. Absorpční maxima NP1 a NP2 jsou 580 a 590 nm. Hypocrelin A indukuje apoptózu nádorových buněk, Hypocrelin B se hromadí v lyzosomech a

endoplazmatickém retikulu buňky a vykazuje podobnou kinetiku jako Photofrin® (Yano et al., 2011).



Obrázek 9 Struktura Hypericinu a Hypocrellinových derivátů.

5.6.2 Fenothiaziny

Fenothiazinová barviva jsou relativně dlouho známé sloučeniny. Patří sem například methylenová nebo toluidinová modř. Tato třída barviv způsobuje přímou buněčnou cytotoxicitu a absorbuje při více než 600 nm (Connor et al., 2009).

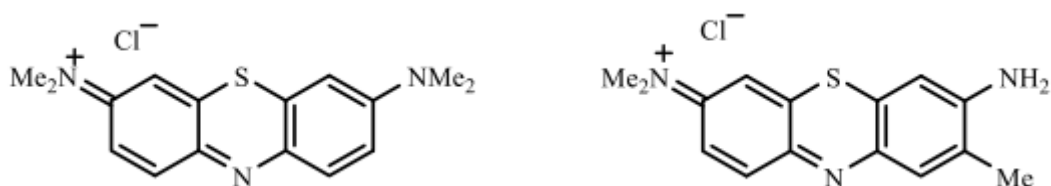
5.6.2.1 Methylenová modř

Methylenová modř patří do rodiny fenothiazinů a absorbuje při 666 nm. Jako fotosenzitizér cílí na melanomové buňky. Jeho možné využití v klinické praxi je pro léčbu basocelulárního karcinomu nebo Kaposiho sarkomu. Probíhá také *in vitro* testování jejího vlivu na rakovinu močového měchýře, rakovinu děložního čípku a adenokarcinomu. Dále byly dokončeny také klinické studie jejího využití při léčbě chronické parodontitidy (Ormond & Freeman, 2013).

5.6.2.2 Toluidinová modř

Další z rodiny fenothiazinů je kationické barvivo toluidinová modř. Ta absorbuje světlo mezi 626 a 632 nm. Tato látka je schopná po ozáření eliminovat řadu mikroorganismů *in vitro*. Jedná se například o kvasinku *Candida albicans* nebo methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*. Má také afinitu k neoplastické tkáni, zkoumá se tedy i její využití pro diagnostiku nádorů dutiny ústní nebo gastrointestinálního traktu. Ve druhé fázi klinického testování je i její

aplikace v léčbě chronické parodontitidy (Connor et al., 2009, Ormond & Freeman, 2013).



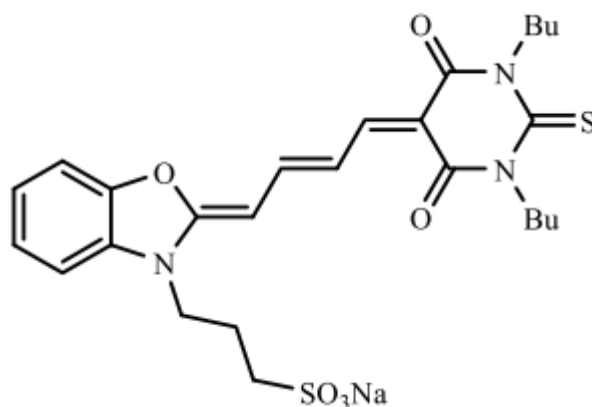
Obrázek 10 Struktura Methylenové a toluidinové modři (zleva).

5.6.3 Cyaniny

Cyaniny jsou různorodou skupinou barviv, která našla využití v barvení textilií, výrobě fotografií a jiných optických záznamů a samozřejmě také v PDT. Jejich schopnost absorbovat světlo vyšších vlnových délek červené oblasti se zvyšuje s prodloužením polymethinových řetězců. Bohužel tím také dochází ke změně dalších vlastností, například chemické stálosti nebo rozpustnosti. Tyto látky mají schopnost se selektivně hromadit v mitochondriích nádorových buněk (Connor et al., 2009).

5.6.3.1 Merocyanin

Merocyanin je neutrální barvivo s absorpčním maximem při 555 nm. Probíhají klinické studie zaměřené na jeho využití v terapii leukemie nebo lymfomu. Bohužel vlnová délka jeho absorpčního maxima omezuje jeho funkčnost *in vivo* (Detty et al., 2004).



Obrázek 11 Struktura merocyaninu.

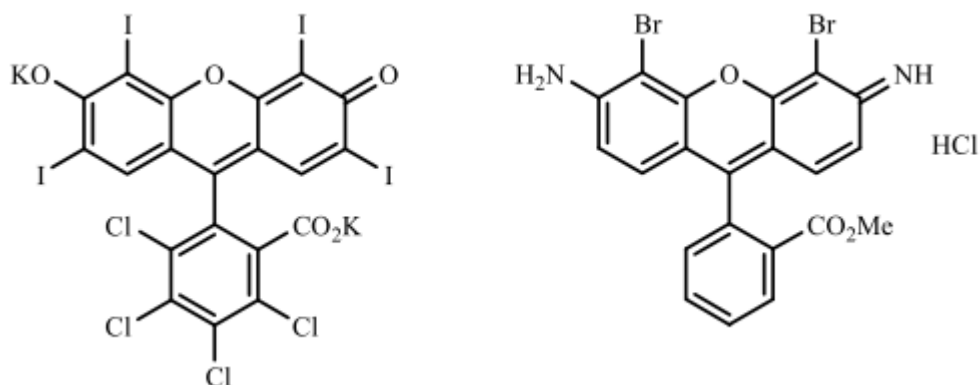
5.6.4 Xanteny

5.6.4.1 Bengálská růžová

Bengálská růžová patří do rodiny xantenů, jedná se o ve vodě rozpustnou sloučeninu, která absorbuje při vlnové délce 549 nm. Tato látka se experimentálně používá v PDT pro terapii rakoviny prsu a metastazujícího melanomu (Ormond & Freeman, 2013).

5.6.4.2 Methylester 4,5-dibromrhodaminu

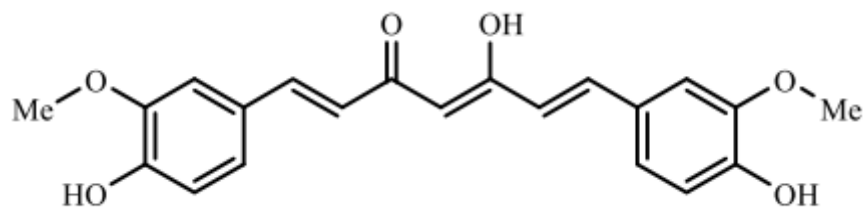
Další z rodiny xantenů je methylester 4,5-dibromrhodaminu, který absorbuje světlo o vlnové délce 514 nm. Přítomnost halogenového atomu v molekule zvyšuje schopnost přechodu do tripletového stavu a tedy i výtěžnost $^1\text{O}_2$. Tato látka způsobuje smrt lymfocytů cestou apoptózy a byla zkoumána možnost jejího využití při reakci štěpu proti hostiteli (Ormond & Freeman, 2013).



Obrázek 12 Struktura bengálské růžové a methylesteru 4, 5 - dibromrhodaminu (zleva).

5.6.5 Kurkuminoidy

Kurkumin je přírodní barvivo izolované z kořene *Curcuma longa* a je součástí různých koření. Absorbuje při 420 nm a byl studován jako dezinfekční prostředek v chirurgii dutiny ústní. Toto barvivo bylo také navrženo jako prostředek pro ničení bakterií pomocí PDT (Ormond & Freeman, 2013).



Obrázek 13 Struktura kurkuminu.

5.7 Třetí generace fotosenzitizérů

Za zmínku stojí i nově vznikající třídy fotosenzitizérů. Do této skupiny patří fotosenzitizéry předchozích generací konjugované nebo zabalené v přenašečových systémech. Ty mají za úkol specificky dodávat PS do nádorové tkáně. Mohou to být monoklonální protilátky, liposomy, nanočástice nebo polymery. Tento způsob úpravy PS vypadá velmi slibně. Lepší cílení PS do nádorové tkáně zlepšuje i účinnost léčby. Nicméně tato generace PS je stále ještě v raném stádiu vývoje (Connor et al., 2009).

6 Závěr

Z předešlého přehledu je patrné, že i přes velkou perspektivu PDT je zatím pro využití v klinické praxi schváleno pouze několik málo látek. Výzkum nových fotosenzitizérů však stále probíhá a přináší velmi slibné výsledky a některé z nich už nemají daleko k uvedení do praxe. Je patrné, že od prvního registrovaného fotosenzitizéru došlo ke značnému pokroku v této oblasti. Podařilo se získat látky s výrazně vyšším absorpčním maximem, což přineslo možnost hlubšího průniku do tkání, ale také snížit nežádoucí kožní fotosenzitivitu. Bohužel využití PDT zatím není příliš rozšířené. Vzhledem ke svým nesporným výhodám by se však jistě brzy mohla dostat do širšího povědomí.

7 Citovaná literatura

- Ackroyd, R., Kelty, C., Brown, N., & Reed, M. (2001). The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochemistry and Photobiology*, 74(5), 656–669. [http://doi.org/10.1562/0031-8655\(2001\)0740656THOPAP2.0.CO2](http://doi.org/10.1562/0031-8655(2001)0740656THOPAP2.0.CO2)
- Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K. a, Foster, T. H., Girotti, A. W., Gollnick, S. O., ... Golab, J. (2011). Photodynamic Therapy of Cancer : An Update. *American Cancer Society*, 61, 250–281. <http://doi.org/10.3322/caac.20114>. Available
- Allison, R. R., Downie, G. H., Cuenca, R., Hu, X.-H., Childs, C. J., & Sibata, C. H. (2004). Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 1(1), 27–42. [http://doi.org/10.1016/S1572-1000\(04\)00007-9](http://doi.org/10.1016/S1572-1000(04)00007-9)
- Allison, R. R., & Sibata, C. H. (2010). Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 7(2), 61–75. <http://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2010.02.001>
- Castano, A. P., Demidova, T. N., & Hamblin, M. R. (2004). Mechanisms in photodynamic therapy: Part one - Photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 1(4), 279–293. [http://doi.org/10.1016/S1572-1000\(05\)00007-4](http://doi.org/10.1016/S1572-1000(05)00007-4)
- Celli, J. P., Spring, B. Q., Rizvi, I., Evans, C. L., Samkoe, K. S., Verma, S., ... Hasan, T. (2010). Imaging and photodynamic therapy: Mechanisms, monitoring, and optimization. *Chemical Reviews*, 110(5), 2795–2838. <http://doi.org/10.1021/cr900300p>
- Connor, A. E. O., Gallagher, W. M., & Byrne, A. T. (2009). Porphyrin and Nonporphyrin Photosensitizers in Oncology : Preclinical and Clinical Advances in Photodynamic Therapy. *Photochemistry and Photobiology*, (17), 1053–1074. <http://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2009.00585.x>
- DeRosa, M. C., & Crutchley, R. J. (2002). Photosensitized singlet oxygen and its applications. *Coordination Chemistry Reviews*, 233–234, 351–371. [http://doi.org/10.1016/S0010-8545\(02\)00034-6](http://doi.org/10.1016/S0010-8545(02)00034-6)

- Detty, R. M., Gibson, L. S., & Wagner, J. S. (2004). Current Clinical and Preclinical Photosensitizers for Use in Photodynamic Therapy. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(16), 3898–3915.
- Gollnick, S. O., Owczarczak, B., & Maier, P. (2006). Photodynamic therapy and anti-tumor immunity. *Lasers in Surgery and Medicine*, 38(5), 509–515. <http://doi.org/10.1002/lsm.20362>
- Grossweiner, L. I., Bilgin, M. D., Berdusis, P., & Mody, T. D. (1999). Singlet oxygen generation by metallotexaphyrins. *Photochemistry and Photobiology*, 70(2), 138–145.
- Chan, A. L., Juarez, M., Allen, R., Volz, W., & Albertson, T. (2005). Pharmacokinetics and clinical effects of mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6) photodynamic therapy in adult patients with primary or secondary cancer of the skin and mucosal surfaces. *Photodermatology Photoimmunology & Photomedicine*, 6(12), 72–78.
- Kamkaew, A., Lim, S. H., Lee, H. B., Kiew, L. V., Chung, L. Y., & Burgess, K. (2013). BODIPY dyes in photodynamic therapy. *Chemical Society Reviews*, 42(1), 77–88. <http://doi.org/10.1039/c2cs35216h>
- Kessel, D. (2004). Photodynamic therapy: From the beginning. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 1(1), 3–7. [http://doi.org/10.1016/S1572-1000\(04\)00003-1](http://doi.org/10.1016/S1572-1000(04)00003-1)
- Lin, J., Wang, S., Huang, P., Wang, Z., Chen, S., Niu, G., ... Nie, Z. (2013). Photosensitizer-loaded gold vesicles with strong plasmonic coupling effect for imaging-guided photothermal/photodynamic therapy. *ACS Nano*, 7(6), 5320–5329. <http://doi.org/10.1021/nn4011686>
- Lovell, J. F., Liu, T. W. B., Chen, J., & Zheng, G. (2010). Activatable photosensitizers for imaging and therapy. *Chemical Reviews*, 110(5), 2839–2857. <http://doi.org/10.1021/cr900236h>
- Nyman, E. S., & Hynninen, P. H. (2004). Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 73, 1–28. <http://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2003.10.002>
- Ochsner, M. (1997). Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 39(1), 1–18. [http://doi.org/10.1016/S1011-1344\(96\)07428-3](http://doi.org/10.1016/S1011-1344(96)07428-3)

- Ormond, A. B., & Freeman, H. S. (2013). Dye sensitizers for photodynamic therapy. *Materials*, 6(3), 817–840. <http://doi.org/10.3390/ma6030817>
- Peng, Q., Berg, K., Moan, J., Kongshaug, M., & Neslandl, J. M. (1997). 5-Aminolevulinic Acid-Based Photodynamic Therapy: Principles and Experimental Research. *Photochemistry and Photobiology*, 65(2), 235–251.
- Sharman, W. M., Allen, C. M., & Van Lier, J. E. (1999). Photodynamic therapeutics: Basic principles and clinical applications. *Drug Discovery Today*, 4(11), 507–517. [http://doi.org/10.1016/S1359-6446\(99\)01412-9](http://doi.org/10.1016/S1359-6446(99)01412-9)
- Sidoroff, A. (2014). Photodynamic Therapy in Dermatology. *Handbook of Photomedicine*, 465–475. <http://doi.org/10.1007/978-1-4419-1298-5>
- Stockert, J. C., Cañete, M., Juarranz, A., Villanueva, A., Horobin, R. W., Borrell, J. I., ... Nonell, S. (2007). Porphycenes: facts and prospects in photodynamic therapy of cancer. *Current Medicinal Chemistry*, 14(9), 997–1026. <http://doi.org/10.2174/092986707780362934>
- Yano, S., Hirohara, S., Obata, M., Hagiya, Y., Ogura, S., Ikeda, A., ... Joh, T. (2011). Current states and future views in photodynamic therapy. “*Journal of Photochemistry & Photobiology, C: Photochemistry Reviews*,” 12(1), 46–67. <http://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2011.06.001>
- Zhang, P., Steelant, W., Kumar, M., & Scholfield, M. (2007). Versatile photosensitizers for photodynamic therapy at infrared excitation. *Journal of the American Chemical Society*, 129(15), 4526–4527. <http://doi.org/10.1021/ja0700707>