

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Bc. Ingrid Hlbočanová
Školitel: RNDr. Miloslav Macháček, Ph.D.
Název diplomové práce: Periférne substituované subftalocyány pre fotodynamickú terapiu s axiálne viazaným benzocrownom alebo metylesterom tyrozínu

Nádorové ochorenia sa pomaly, ale s istotou stávajú najrozšírenejším ochorením na svete. Malígne stavy postihujú široké spektrum ľudí, ktorí predispozíciu k ochoreniu zdedili geneticky, prípadne boli alebo sú ovplyvnení faktormi vonkajšieho prostredia. Nákladná terapia však predstavuje problém nielen vo vyspelých krajinách, ale hlavne v krajinách tretieho sveta. Financie a dostupnosť predstavujú len časť z problému. Základom je hlavne včasná diagnostika, prevencia pred vznikom tohto typu ochorenia a efektívna terapia.

Vzhľadom na vysokú rozšírenosť a úmrtnosť spojenú s malígnymi ochoreniami, ktoré každoročne stúpajú, sa venuje veľké úsilie predchádzaniu týchto ochorení a správnu a včasnou diagnostikou spojenou so zdravým životným štýlom. Veľká pozornosť sa venuje taktiež aj výskumu a vývoju nových a účinných protinádorových liečiv a terapeutických postupov. Jednou z takýchto moderných a sľubných metód je fotodynamická terapia (PDT).

Jedná sa o selektívnu, minimálne invazívnu klinicky schválenú terapeutickú metódu spojenú s minimálnym výskytom negatívnych vedľajších účinkov v porovnaní s metódami ako chemoterapia, rádioterapia, chirurgické zákroky či ich kombinácie. PDT sa stáva čoraz viac využívanou a uznávanou alternatívou v rámci terapie malígnych či nemalígnych stavov aj vďaka menej finančnej nákladnej liečbe a lepšej dostupnosti terapie. Princípom metódy je lokálne alebo systémové podanie samostatne neaktívnej látky, označovanej ako fotosenzitizér (PS), s následným ožiarením miesta svetlom o vhodnej vlnovej dĺžke a intenzite. Po ožiarení a aktivácii PS spolu s prítomným molekulárnym kyslíkom, ako poslednou hlavnou

komponentou, dochádza ku vzniku fotochemickej reakcie s tvorbou vysoko reaktívnych foriem kyslíka. Tie vedú k stavu oxidačného stresu, ktorý spôsobí poškodenie a úmrtie nádorových buniek, poškodenie mikrocirkulácie v mieste nádoru a prípadne taktiež k vzniku imunitnej reakcie organizmu.

Cieľom tejto práce je zhodnotenie fotodynamickej aktivity, účinnosti a mechanizmu pôsobenia nových syntetizovaných derivátov flalocyanínov, fotosenzitizérov zo skupiny označovaných ako subftalocyaníny (SubPc). Nami študované deriváty sa vyznačujú axiálne viazanými substituentami so štruktúrou benzocrownu a metylesteru tyrozínu. Testovanie prebiehalo *in vitro* na dvoch bunkových líniiach HeLa (ľudské malígne bunky krčka maternice) a SK-MEL-28 (ľudské melanómové nádorové bunky), kedy sa skúmala cytotoxicita po ožiarení svetlom s vhodnou vlnovou dĺžkou a vlastná toxicita látok. Ďalej prebiehala lokalizácia skúmaných látok v bunke pomocou fluorescenčného mikroskopu, stanovenie typu bunkovej smrti s využitím Annexinu V a sledovanie časového prestupu látok do bunky.

Z výsledkov mojej práce bola zistená veľmi sľubná fotodynamická aktivita štyroch skúmaných látok (3I-SubPc-CE, 3EtS-SubPc-CE, 3EtS-SubPc-Tyr-FB a 3EtS-SubPc-Tyr-Boc) po aktivácii svetlom na oboch bunkových líniiach. Látka 3EtS-SubPc-CE ($EC_{50} = 2,3 \pm 0,7$ nM) a 3I-SubPc-CE ($EC_{50} = 37,8 \pm 7,6$ nM) testované na SK-MEL-28 bunkovej línii sa preukázali ako najúčinnnejšie a to aj v porovnaní s klinicky testovanými a používanými PS. Skúmané látky boli lokalizované v lyzosómoch a adiposómoch. Po ožiarení podliehali bunky apoptickej bunkovej smrti, čo sa prejavilo nárastom luminiscenčného signálu a časovým oneskorením nárastu fluorescenčného signálu. V rámci štúdia časového prestupu látok do bunky sa látka 3EtS-SubPc-CE dostávala do bunky v najvyššom množstve.

Kľúčové slová: fotodynamická terapia, fotosenzitizér, subftalocyaníny, cytotoxicita, bunková smrť, Annexin V, subcelulárna lokalizácia, BCA