



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

# BIO-INSPIROVANÉ ORGANICKÉ MATERIÁLY PRO FOTODYNAMICKOU TERAPII

BIO-INSPIRED ORGANIC MOLECULES FOR PHOTODYNAMIC THERAPY

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

## AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Nikola Švarcová

## VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.

BRNO 2023

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1778/2022 Akademický rok: 2022/23  
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie  
Studentka: **Nikola Švarcová**  
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace  
Studijní obor: bez specializace  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.**

### Název bakalářské práce:

Bio–inspirované organické materiály pro fotodynamickou terapii

### Zadání bakalářské práce:

1. Zpracování literární rešerše na téma využití bio–inspirovaných organických molekul pro fotodynamickou terapii
2. Na základě literární rešerše zahájení syntézy základních intermediátů a jejich strukturální charakterizace
3. Analýza a vyhodnocení dat, interpretace výsledků.
4. Shrnutí dosažených výsledků.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2023:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

-----  
Nikola Švarcová  
studentka

-----  
doc. Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

-----  
prof. Ing. Michal Veselý, CSc.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Fotodynamická terapie je léčebná metoda využívající klinickou aplikaci fotosensitizerů pro alternativní léčbu onkologických a zánětlivých onemocnění. Jedním z důležitých elementů pro efektivní průběh terapie je použití fotosensitizerů, látek vykazujících absorpční vlastnosti. Díky konjugovanému systému mohou flaviny absorbovat světlo a sloužit tak jako potenciální fotosensitizer. Předložená bakalářská práce se zabývá přípravou nového flavinového derivátu, inspirovaného riboflavinem. Strukturální izomery riboflavinu, alloxaziny, poskytují snadnou syntetickou modifikovatelnost pro vylepšení materiálových vlastností. V teoretické části je popsán princip a mechanismus fotodynamické terapie, moderní trendy jejího použití v medicínských aplikacích, limitace, výhody a nepostradatelné elementy pro efektivní průběh terapie. V práci je následně představena možnost potenciálního využití flavinů jako přírodou-inspirovaných fotosensitizerů absorbujících světlo v infračervené oblasti spektra. Experimentální část popisuje přípravu meziproductů a finálních prekurzorů, 1,3-dialkylovaného uracilu a 1,2-diketonu odvozeného ze struktury acenaftenu. Ověřené syntetické cesty poskytovaly v práci vysoké výtěžky připravených meziproductů a finálních prekurzorů, což bude přínosné pro následné syntetické studie, a naleznou tak uplatnění pro další přípravu série nových flavinových derivátů.

## **ABSTRACT**

Photodynamic therapy is a treatment method using the clinical application of photosensitisers for alternative treatment of oncological and inflammatory diseases. Using photosensitisers, substances with absorption properties, is a crucial element for the effective therapy process. Flavins can serve as photosensitisers in photodynamic therapy thanks to their conjugated system. The proposed bachelor thesis is focused on preparing of a novel, riboflavin-inspired flavin derivative. The structural isomers of riboflavin, alloxazines, provide simple synthetic modification for material properties enhancement. The theoretical part deals with the principle and mechanism of photodynamic therapy, modern trends in medical applications, limitations, benefits and essential elements for the effective therapy process. Consequently, the possibility of flavin derivatives potential use as infrared-absorbing photosensitisers is considered. The experimental part aims to prepare the intermediates and final precursors, 1,3-dialkylated uracil and acenaphthene-based 1,2-diketone. Verified synthetic paths described in the thesis provided high yields of the prepared intermediates and final precursors. Thus, the approaches will be utilized in the following synthetic studies to prepare the acenaphthene flavins series.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

fotodynamická terapie, flaviny, přírodou-inspirovaný fotosensitizer, 1,3-dialkylovaný uracil, 1,2-diketon, acenaften

## **KEYWORDS**

photodynamic therapy, flavins, nature-inspired photosensitizer, 1,3-dialkylated uracil, 1,2-diketone, acenaphthene

ŠVARCOVÁ, Nikola. *Bio-inspirované organické materiály pro fotodynamickou terapii* [online]. Brno, 2023 [cit. 2023-05-21]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148043>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Jozef Krajčovič.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

### *Poděkování*

*Tímto bych chtěla poděkovat panu docentu Krajčovičovi za příležitost stát se členem jeho týmu. Dále chci poděkovat panu doktoru Truksovi za spolupráci a vedení při kvantové části práce, panu doktoru Richtárovi za pomoc a nápady u průběhu syntéz, i mým famózním spolužačkám, které při mně stojí a podporují mě. Velice chci poděkovat mým rodičům, prarodičům a příteli, kteří mě velice podporují a motivují. Mé největší díky patří mé konzultantce, slečně inženýrce Ivanové, za její neuvěřitelnou ochotu, trpělivost, spolupráci, motivaci a inspiraci při psaní práce a při vykonávání experimentů.*

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>9</b>
2.1	Fotodynamická terapie (PDT) .....	9
2.1.1	Mechanismus PDT .....	10
2.1.2	Aplikace PDT v medicíně .....	10
2.1.3	Výhody a limitace PDT .....	11
2.1.4	Podstatné elementy PDT .....	12
2.1.4.1	Zdroje světla .....	12
2.1.4.2	Kyslík .....	12
2.1.4.3	Fotosensitizéry .....	13
2.1.5	Flaviny jako potenciální fotosensitizéry v PDT .....	14
2.1.6	Příprava flavinového derivátu s acenaftenovým systémem .....	16
2.1.6.1	Příprava uracilového prekurzoru .....	16
2.1.6.2	Příprava diketonového prekurzoru .....	17
2.2	Použité analytické metody .....	17
2.2.1	Nukleární magnetická rezonance (NMR) .....	17
<b>3</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>18</b>
3.1	Všeobecné informace k provedeným experimentům a použitým přístrojům .....	18
3.2	Seznam použitých chemikálií .....	18
3.3	Syntéza substituovaného uracilového motivu .....	20
3.3.1	Příprava <i>N,N'</i> -dibutylované močoviny 5 .....	20
3.3.2	Příprava 6-amino-1,3-dibutyluracilu 4 .....	21
3.3.3	Příprava 6-amino-1,3-dibutyl-5-nitrosouracilu 3 .....	22
3.3.4	Příprava 5,6-diamino-1,3-dibutyluracilu 2 .....	23
3.4	Syntéza diketonového prekurzoru .....	24
3.4.1	Příprava <i>N<sup>5</sup>,N<sup>5</sup>,N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup></i> -tetramethyl-1,2-dihydroacenaftnylen-5,6-dikarboxamidu 10 .....	24
3.4.2	Příprava anhydridu kyseliny 5,6-acenaftendikarboxylové 9 .....	25
3.4.3	Příprava 2-butyl-6,7-dihydro- <i>1H</i> -indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3( <i>2H</i> )-dionu 8 .....	26
3.4.4	Příprava 2-butyl- <i>1H</i> -indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3,6,7( <i>2H</i> )-tetronu 7 .....	27
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>28</b>
4.1	Prekurzory flavinového derivátu pro PDT .....	28
4.1.1	Příprava alkylovaného uracilového motivu .....	28
4.1.1.1	Příprava <i>N,N'</i> -dibutylované močoviny 5 .....	29
4.1.1.2	Příprava 6-amino-1,3-dibutyluracilu 4 .....	29
4.1.1.3	Příprava 6-amino-1,3-dibutyl-5-nitrosouracilu 3 .....	30

4.1.1.4	Příprava 5,6-diamino-1,3-dibutyluracilu 2 .....	31
4.1.2	Příprava 1,2-diketonového prekurzoru .....	31
4.1.2.1	Příprava N <sup>5</sup> ,N <sup>5</sup> ,N <sup>6</sup> ,N <sup>6</sup> -tetramethyl-1,2-dihydroacenaftýlen-5,6-dikarboxamidu 10 .....	32
4.1.2.2	Příprava anhydridu kyseliny 5,6-acenaftendikarboxylové 9 .....	32
4.1.2.3	Příprava 2-butyl-6,7-dihydro-1H-indeno[6,7,1-def]isoquinolin-1,3(2H)-dionu 8 .....	33
4.1.2.4	Příprava 2-butyl-1H-indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3,6,7(2H)-tetronu 7 .....	33
4.1.3	Příprava flavinového prekurozu .....	33
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>35</b>
<b>6</b>	<b>POUŽITÁ LITERATURA</b> .....	<b>35</b>
<b>7</b>	<b>SEZNAM PŘIPRAVENÝCH MOLEKUL</b> .....	<b>44</b>
<b>8</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ</b> .....	<b>46</b>
<b>9</b>	<b>PŘÍLOHY</b> .....	<b>47</b>
9.1	NMR spektra .....	47

## **CÍL PRÁCE**

Cílem této práce je vytvořit literární rešerši pojednávající o využití bio-inspirovaných organických molekul pro fotodynamickou terapii, na základě literární rešerše zahájit syntézu základních prekurzorů a popsat jejich strukturní charakterizace. V experimentální části je cílem zpracovat a vyhodnotit získaná data po vykonaných experimentech. Na závěr shrnout dosažené výsledky a popsat směr dalšího výzkumu pro budoucí práci.

# 1 ÚVOD

Kůže je největším orgánem lidského těla, tvoří až 16 % tělesné hmotnosti. Skládá se ze dvou primárních vrstev, epidermis a dermis, které jsou neustále v kontaktu s vnějším prostředím. Pokožka funguje jako fyzikálně-chemická bariéra proti stresovým faktorům vnějšího prostředí jako jsou patogeny, chemikálie a UV záření.

Chemoterapie a radioterapie jsou nejběžnější metody léčby rakoviny, nicméně rakovina kůže je méně citlivá na chemoterapeutika, vůči nim a záření je silně odolná. Tyto vlastnosti z nich činí extrémně neuspokojivé protirakovinné terapie pro ošetření pokožky. Také ničí zdravé buňky a mají slabou specifitu vůči nádorovým buňkám. Fotodynamická terapie je druh léčby, kterou lze definovat jako terapeutickou, klinicky schválenou techniku s minimální invazí do těla se selektivním cytotoxickým účinkem na nádorové buňky. Historicky byla fototerapie slunečním zářením již známá a využívaná civilizacemi v Egyptě, Indii, Číně a Řecku k léčbě a prevenci různých kožních onemocnění.

Fotosensitizéry, jakožto esenciální složky fotodynamické terapie, se obecně dělí na 3 generace podle jejich vlastností, dále mohou být děleny na přírodní a syntetické. Riboflavin slouží jako model pro syntézu modifikovaných flavinů, které by svými vlastnostmi mohly zlepšit efektivitu samotné terapie. Flaviny se vyznačují schopností absorbovat světlo a poskytují tak širokou chemickou modifikovatelnost. Aby mohly být flaviny použity ve fotodynamické terapii jako fotosensitizéry a mohly tak podpořit efektivitu terapie, je třeba odhalit struktury, od kterých se odvíjejí klíčové vlastnosti, které lze chemicky modifikovat. Alkylací uracilové části flavinů lze zvýšit jejich rozpustnost a vhodně zvolený konjugovaný systém posune absorpci flavinových fotosenzitizérů blíže k infračervené oblasti světelného spektra.

Vyšší rozpustnost flavinových derivátů a posun absorpce k infračervené oblasti skýtá možnost pro vývoj nové generace fotosenzitizérů aplikovatelných pro fotodynamickou terapii, s potenciálem pro podporu léčby rakoviny kůže nejen povrchově, ale i hlouběji do tkání. Tato práce se zabývá syntézou prekurzorů, podporující požadované vlastnosti flavinového derivátu.



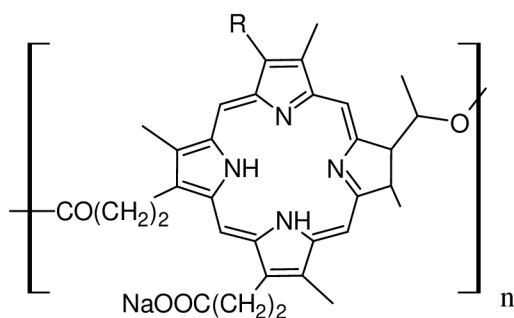
## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Fotodynamická terapie (PDT)

Světlo je využíváno k léčbě onemocnění už od starověku [1]. Egypťské, čínské a indické civilizace využívaly sluneční světlo k léčbě různých kožních onemocnění, jako je psoriáza (lupénka), vitiligo (neinfekční kožní onemocnění projevující se ztrátou melanocytů) a rakovina kůže [2]. V 18. a 19. století se ve Francii využívalo sluneční záření k léčbě několika onemocnění, jako jsou tuberkulóza, kurděje, revmatismus, paralýza a svalová slabost [3]. V roce 1903 byla udělena Nobelova cena za fyziologii a medicínu Nielsi Finsenovi za přínos významu světla v lékařství. Finsen odhalil, že sluneční světlo může být využito k léčbě lupus vulgaris, tuberkulóznímu onemocnění kůže. Tento objev znamenal začátek moderní fototerapie [1; 4; 5].

Fotodynamická terapie (PDT) je založena na interakci fotosenzitizéru (PS), světla se specifickou vlnovou délkou, a molekulárního kyslíku [6]. Léčba PDT spočívá v podání PS, který se selektivně hromadí v nádorové tkáni. Následně je PS vystaven světlu o vhodné vlnové délce [7]. Samotný PS nereaguje s molekulami ve svém okolí. Je proto aktivován světlem a po ozáření dojde k přenosu energie z molekuly PS na molekulární kyslík za vzniku reaktivních forem kyslíku (ROS), jako je singletový kyslík ( $^1O_2$ ), superoxidový radikál ( $O_2^-$ ), hydroxylový radikál ( $HO^\cdot$ ) a peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ) [1]. Tyto cytotoxické fotoprodukty spouštějí kaskádu biochemických dějů, které mohou vyvolat poškození a zničení cílové tkáně [7].

V roce 1911 W. Hausmann publikoval účinky PS, hematoporphyrinu, a světla na prvocích a krevních buňkách u myši, kterým byl podán hematoporphyrin a u kterých se vyskytly kožní reakce [3; 4; 8]. První zpráva o aplikaci PDT na člověka byla v roce 1913, kdy F. Meyer-Betz aplikoval injekčně sám sobě 200 mg hematoporphyrinu, aby zjistil, zda by mohly být vyvolány podobné účinky u lidí. Popsal dlouhotrvající bolesti a otoky v místech vystavených světlu [2; 3; 8]. V roce 1960 iniciovali R. Lipson a S. Schwartz koncept fotodynamické terapie (PDT) na klinice Mayo, kdy Lipson a Schwartz objevili léčivé účinky proti zhoubným onemocněním injekční aplikací derivátu hematoporphyrinu (HpD) [1]. V roce 1975 došlo k významnému průlomů v PDT, když T. Dougherty uvedl, že podání HpD a jeho aktivace s červeným světlem zcela zamezilo růstu nádorů mléčné žlázy u myši. Téhož roku J. F. Kelly aktivoval HpD pomocí světla a dokázal tak eliminovat karcinom močového měchýře u myši [4]. V roce 1976 došlo k další významné události, kdy J. F. Kelly a M. E. Snell přistoupili k první studii účinků HpD v PDT při léčbě rakoviny močového měchýře u lidí [3]. Dougherty a spol. začali produkovat Fotofrin (porfimer sodný), což byla první molekula fotosenzitizéru schválena organizací US Food and Drug Administration (FDA) v roce 1995 pro léčbu rakoviny [2]. Od té doby PDT pokračuje ve vývoji a její klinická aplikace byla rozšířena i na další oblasti kromě léčby nádorů.

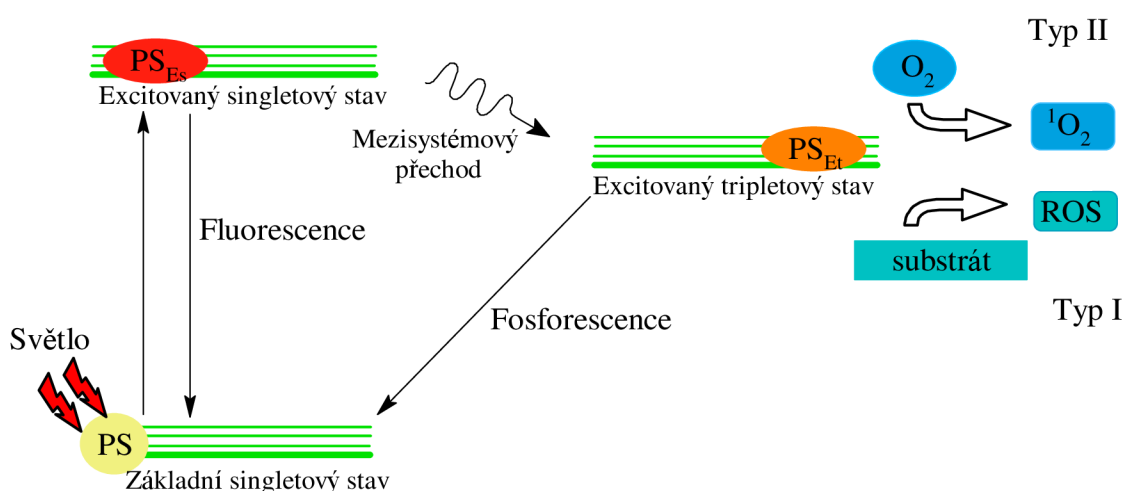


R: 2-hydroxyethyl; ethyl

Obrázek 1 Struktura Fotofrinu

### 2.1.1 Mechanismus PDT

Fotosensitizer je vystaven světlu o určité vlnové délce, absorbuje energii ze světla a dojde tak k jeho excitaci ze základního do excitovaného singletového stavu [9]. PS v singletovém stavu má přebytek energie. Buď je tato energie vyzářena ve formě fluorescence v momentě, kdy se PS deexcituje do základního stavu, nebo PS podléhá tzv. mezisystémovému přechodu a přejde ze singletového stavu na tripletový stav. PS v tripletovém stavu má méně energie než v singletovém stavu a tato energie může být vyzářena ve formě fosforescence. Fluorescence a fosforescence jsou charakterizované kvantovým výtěžkem, který je definován jako poměr emitovaných světelných kvant ku absorbovaným světelným kvantům za jednotku času. Nevyzářená energie může být použita na další procesy. Po přechodu PS ze singletového stavu do tripletového stavu může docházet ke dvěma dějům. Buď PS reaguje se substrátem za vzniku radikálu, který reaguje s kyslíkem a vznikají tak reaktivní formy kyslíku (ROS), konkrétně superoxidový radikál ( $O_2^-$ ), hydroxylový radikál ( $HO^\cdot$ ) a peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ). ROS se v cílové buňce zapojí do cílového procesu. Druhý způsob, jakým může PS v tripletovém stavu reagovat, je s molekulou kyslíku za vzniku reaktivního singletového kyslíku ( $^1O_2$ ) [9]. Obě reakce mohou, ale nemusí probíhat zároveň, záleží na interpretaci celkovém systému. Mechanismus PDT je zobrazen na obrázku 2.



Obrázek 2 Modifikovaný Jablonskiho diagram; PS: fotosensitizer; PS<sub>Es</sub>: fotosensitizer v excitovaném singletovém stavu; PS<sub>Et</sub>: fotosensitizer v excitovaném tripletovém stavu; ROS: reaktivní formy kyslíku;  $^1O_2$ : singletový kyslík

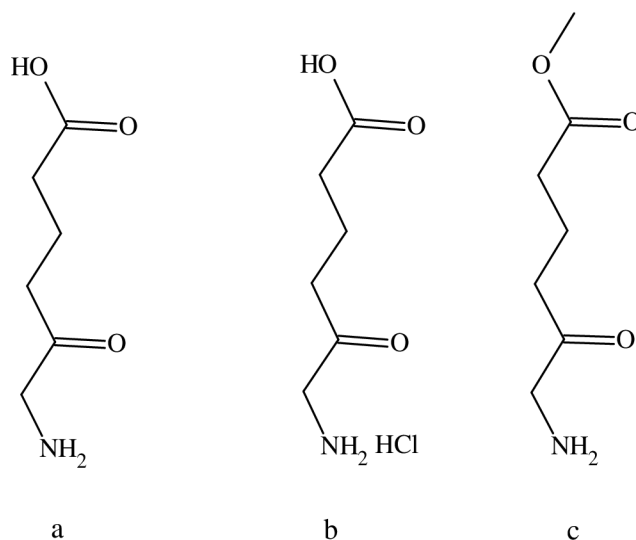
### 2.1.2 Aplikace PDT v medicíně

PDT využívá minimálně invazivní postup, který se používá klinicky při léčbě onkologických onemocnění, jako je rakovina kůže, jícnu, hlavy a krku, plic, a močového měchýře [10]. PDT má však také několik neonkologických aplikací [11], jako jsou dermatologická onemocnění (akné [12], bradavice [13], aktinická keratóza [14], psoriáza [15], cévní malformace [16], hirsutismus (zvýšený růst pigmentovaných chloupků u žen) [17], keloidy [18]), oftalmologická (neovaskularizace rohovky [19]), kardiovaskulární (ateroskleróza [20]), zubní (orální lichen planus [21]), neurologická (Alzheimerova choroba [22]), kosterní (revmatoidní artritida [23]) a gastrointestinální (Crohnova choroba [24]).

Využití PDT může být rozšířeno o inaktivaci virů a mikroorganismů, včetně bakterií, kvasinek a hub, pojmenované jako fotodynamická inaktivace (PDI) mikroorganismů. Viry nebo mikroorganismy jsou inaktivovány kombinací netoxických barviv (fotosensitizerů) a viditelného světla. PDI lze použít jako alternativu k antibiotikům a antivirovým látkám. Aplikace PDI je možná v několika oblastech, včetně lidské a veterinární medicíny, agropotravinářství, čištění odpadních vod a biologické bezpečnosti. Nedávno bylo diskutováno o použití postupu PDT k léčbě pacientů s onemocněním COVID-19 [10; 11].

Dr. M. Weber a kol. [25] provedli studii, která se zabývá použitím riboflavinu v kombinaci s modrým světlem v PDT pro pacienty nakažené akutním onemocněním COVID-19. Studie zkoumala pacienty pozitivní na COVID-19, kteří dostávali konvenční péči, a pacienty pozitivní na COVID-19, kteří byli podrobeni PDT. Pacienti, kteří byli podrobeni léčbě PDT, vykazovali významné zlepšení klinických příznaků a virové zátěže do 5 dnů. Kontrolní pacienti neměli žádné významné klinické zlepšení příznaků nebo virové zátěže. Výsledky dokazují potenciál postupu PDT k léčbě pacientů infikovaných virem COVID-19 v časném stadiu infekce s mírnou formou až středně závažnými klinickými příznaky. Tato nová aplikace postupu PDT může zabránit hospitalizaci pacientů a podrobení intenzivní péči.

V Evropě jsou pro dermatologické léčebné postupy, konkrétněji pro topické použití na kůži v PDT, jsou nejběžněji používány tři fotosensitizery. První je 5-aminolevulová kyselina (5-ALA), známá jako přípravek Ameluz®, druhý PS hydrochlorid kyseliny 5-aminolevulové, prodejním názvem AlaCare®. Třetí je methylester kyseliny 5-aminolevulové (MAL), název přípravku je Metvix®. 5-ALA Ameluz® se využívá v kombinaci s červeným světlem pro léčbu mírné a středně těžké aktinické keratózy a povrchového bazocelulárního karcinomu (bazoliomu). 5-ALA AlaCare® je schválena pro léčbu mírné aktinické keratózy v kombinaci s červeným světlem. MAL Metvix® se používá v kombinaci s červeným světlem pro léčbu aktinické keratózy, Bowenovy choroby a povrchového bazoliomu [26; 27].



Obrázek 3 Struktury fotosensitizerů: kyselina 5-aminolevulová (a); hydrochlorid kyseliny 5-aminolevulové (b); methylester kyseliny 5-aminolevulové (c)

### 2.1.3 Výhody a limitace PDT

PDT má několik výhod oproti konvenčním přístupům k léčbě rakoviny. První generace fotosensitizerů způsobuje zvýšenou fotosenzitivitu kůže. PDT však nemá při správném používání dlouhodobé vedlejší účinky. Je méně invazivní než chirurgické zákroky a lze ji provádět ambulantně [28]. PDT může být aplikována přímo a přesně v cílové tkáni díky její dvojí selektivitě. Dva hlavní faktory, které přispívají k selektivitě PDT, jsou fotosensitizerů, které se přednostně hromadí v nádorové tkáni, a ozáření PS světlem výhradně v cílové tkáni [6; 28]. Selektivní akumulace PS v nádoru je usnadněna v případě topické aplikace, protože PS se aplikuje přímo a pouze na léze, které mají být léčeny. Když je PS podáván intravenózně, musí zůstat v oběhu dlouho v dostatečném množství, aby dosáhl do místa nádoru a mohl se akumulovat [6]. Kromě toho lze PDT, na rozdíl od ozáření, opakovat několikrát na stejném místě. Po léčbě se mohou vyskytovat na kůži malé jizvy. PDT je ale obvykle cenově dostupnější než jiné terapeutické metody v léčbě rakoviny [28; 29].

Jako každá terapeutická metoda má i PDT určitá omezení. Okysličení tkání je rozhodující pro vznik fotodynamického efektu. Nádory obklopené hustou nádorovou hmotou snižují obsah kyslíku ve tkáních a mohou vést k neúčinnému efektu PDT. Přesnost ozáření cílové tkáně je nejdůležitějším bodem při zvažování PDT jako o možnosti léčby. Proto nádory, nacházející se hluboko v tkáních (nejsou snadno dostupné bez chirurgického zákroku), jsou obtížně léčitelné kvůli nízkému pronikání viditelného světla do tkáně [28; 30]. Hlavní výhody a limitace PDT jsou shrnuty v Tabulce 1.

Tabulka 1 Shrnutí hlavních výhod a nevýhod PDT

Výhody	Limitace
<input checked="" type="checkbox"/> nízký vedlejší účinek	<input checked="" type="checkbox"/> fotosenzitivita po léčbě
<input checked="" type="checkbox"/> méně invazivní	
<input checked="" type="checkbox"/> krátká doba ošetření	<input checked="" type="checkbox"/> účinnost léčby závisí na přesnosti ozáření nádoru
<input checked="" type="checkbox"/> použitelné ambulantně	
<input checked="" type="checkbox"/> opakovaná aplikace na stejném místě	<input checked="" type="checkbox"/> okysličení tkání je zásadní pro fotodynamický efekt
<input checked="" type="checkbox"/> nižší náklady	

## 2.1.4 Podstatné elementy PDT

### 2.1.4.1 Zdroje světla

Světlo je nepostradatelnou součástí pro aplikaci v PDT. Léčba pomocí PDT je zahájena aktivací PS pomocí světla o určité vlnové délce. Zdroj záření je závislý na požadované vlnové délce světla podle polohy nádoru v tkáni. Volba PS podléhá výběru vlnové délky světelného zdroje. V PDT převládá volba světla s většími vlnovými délkami, jelikož červené světlo proniká hlouběji do tkání než modré světlo, proto je vývoj PS zaměřen na přípravu PS s maximální absorpcí ve fyziologickém okně (600–1300 nm) [31]. Světlo s většími vlnovými délkami tak podpoří efektivitu léčby pomocí PDT. Nejpoužívanějšími zdroji světla v PDT jsou lasery, LED diody a lampy [32].

Lasery se v PDT používají při léčení povrchu kůže nebo pro penetraci světla hlouběji do tkání. Generují monochromatické světlo, které je koherentní, a má vysokou zářivost. Laser se může kombinovat s čočkami pro rozptyl vyzařovaného světla dopadajícího na kůži, aby byl pokryt co největší povrch pokožky. Nevýhodou laserů je jejich pořizovací náklady a náročná údržba [33].

LED diody jsou polovodičová záření generující světlo [33]. Oproti laserům nevyzařují koherentní světlo. Jsou levné, přenositelné a používají se při léčbě povrchu kůže [34]. Světlo nevykazuje tak velkou zářivost jako u laserů a emituje fotony ve větší oblasti vlnových délek [35].

Lampy byly používány jako první zdroj světla v PDT [36; 37]. Světlo emituje fotony ve větší oblasti vlnových délek, nejčastěji se používají pro ozařování povrchu kůže a ústní dutiny. Jedná se o levné zařízení, které se může kombinovat s optickými filtry, které propouští světlo o vlnové délce, která odpovídá absorpční oblasti použitého PS [38].

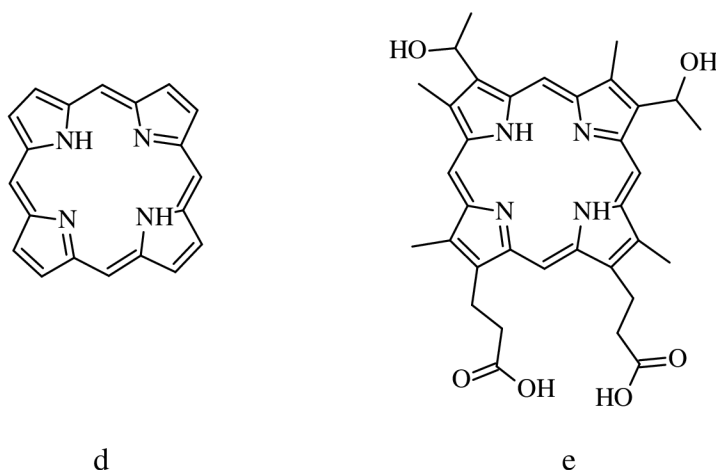
### 2.1.4.2 Kyslík

Pro úspěšnou aplikaci PDT je důležitá přítomnost kyslíku v místě, kde se nachází nádorové buňky. Mechanismem PDT vznikají z kyslíku buď reaktivní formy kyslíku (ROS; typ I) nebo singletový kyslík ( $^1\text{O}_2$ ; typ II). ROS ( $\text{O}_2^-$ , HO,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) způsobují apoptózu nádorových buněk, singletový kyslík způsobuje jejich apoptózu i nekrózu. Metoda PDT je lokální metodou, proto jsou zničeny pouze buňky nádorové [39].

### 2.1.4.3 Fotosensitizéry

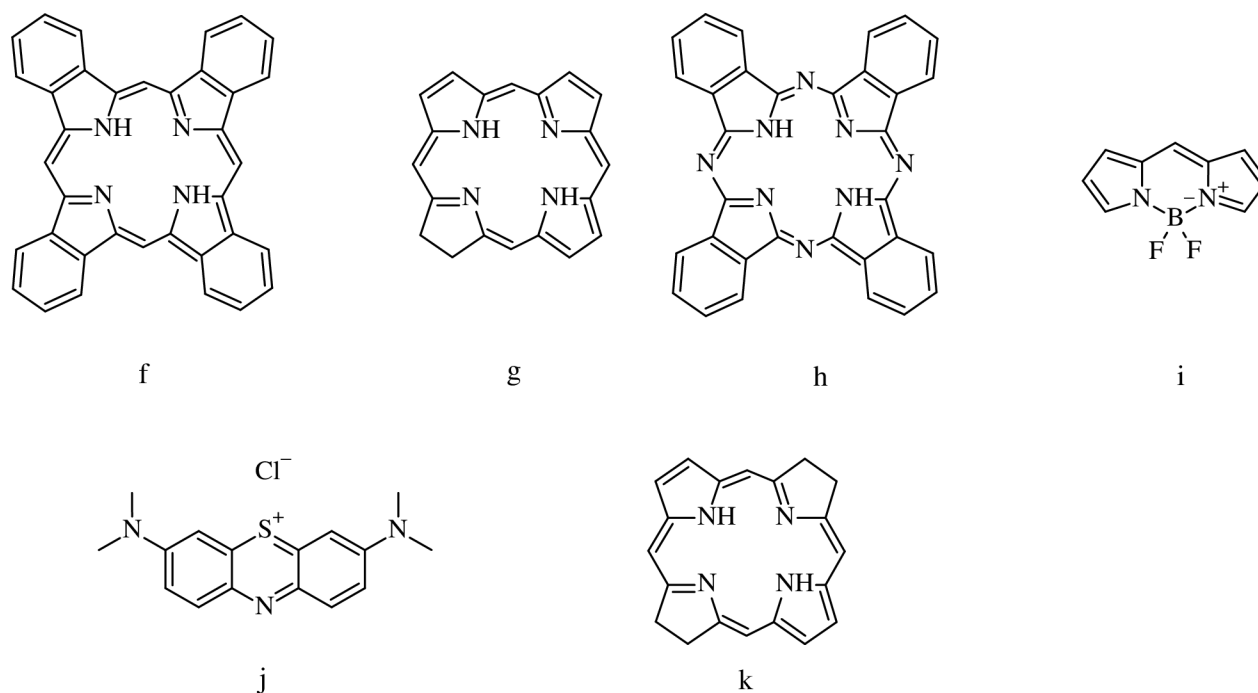
Fotosensitizér je látka, která dokáže absorbovat světlo o určité vlnové délce ve formě energie a tuto energii dokáže vyzářit ve formě světla [40]. Fotosensitizéry mohou mít buď přírodní původ (porfyrin, riboflavin, bakteriochlorin) nebo je lze připravit syntetickou cestou (eosin, 5-ALA, benzoporfyrin) [41]. Základní klasifikaci fotosensitizérů lze definovat třemi generacemi: první, druhou a třetí [42; 43; 44].

Do první generace fotosensitizérů se řadí přírodní porfyrin a jeho derivát hematoporfyrin [45; 46]. Byly použity jako fotosensitizéry pro první klinické pokusy pro aplikaci v PDT [47]. I když se vyznačují fotodynamickou aktivitou, mají řadu nevýhod jako je cytotoxicita, fototoxicita kůže, nízké absorpční koeficienty v červené oblasti viditelného světla. V těle pacienta přetrvávají 2 až 3 měsíce a nesmí být vystaveny přímému slunečnímu světlu [48]. Tyto negativní vlastnosti posloužily jako model pro vývoj fotosensitizérů druhé generace [49].



Obrázek 4 Struktury porfyrinu (d) a hematoporfyrinu (e)

Mezi fotosensitizéry druhé generace patří např. tetrabenzoporfyrin, chlorin, ftalocyanin, 5-ALA, chlorofylové deriváty (puriny), boron-dipyrromethen BODIPY, methylenová modř a bakteriochlorin [50]. Tyto fotosensitizéry poskytují vysoký výtěžek singletového kyslíku a jsou dobře rozpustné ve vodě [51]. Navzdory těmto výhodám mohou poškodit tkáň v důsledku toxicity, jsou méně stabilní a způsobují signifikantní bolest [52]. Proto byly chemicky modifikovány za vzniku fotosensitizérů třetí generace.



Obrázek 5 Struktury fotosenzitizerů druhé generace: tetrabenzoporpyrin (f); chlorin (g); ftalocyanin (h); BODIPY (i); methylenová modř (j); bakteriochlorin (k)

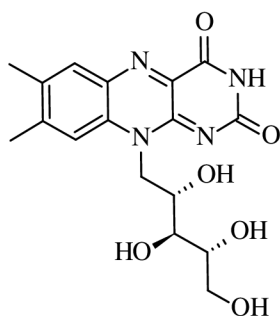
Fotosenzitizéry třetí generace se specificky vážou na cílovou buňku a zničí ji, aniž by poškodily zdravé buňky. Fotosenzitizéry druhé generace byly modifikovány pomocí nosičů, do kterých mohou být enkapsulovány, za vzniku fotosenzitizerů třetí generace [53]. Cílem této modifikace je, aby PS působil pouze na cílovou oblast, a nikoliv na její okolí [54], dále byla snaha o vylepšení farmakokinetických vlastností PS (absorpce, distribuce, metabolismus a eliminace) [55; 56]. Funkce nosičů je zajistit hromadění PS v cílové tkáni. Jako nosič se vybírá taková nanočástice, která zvýší selektivitu PS a podpoří tak její efektivitu. Mohou to být liposomy, micely, polymery (dendrimery), nanočástice uhlíku, křemíku nebo zlata [57].

### 2.1.5 Flaviny jako potenciální fotosenzitizéry v PDT

Flaviny jsou biologicky aktivní látky, které se přirozeně vyskytují v lidském organismu. Hrají důležitou roli v metabolismu ve formě koenzymů a jsou omezeně rozpustné ve vodě [58; 59]. Základem flavinové struktury je isoalloxazinové jádro, které díky konjugovanému systému dvojných vazeb absorbuje světlo [60]. Jedním ze zástupců flavinů je riboflavin (RF), známý také jako vitamín B<sub>2</sub>.

Riboflavin (RF) je esenciální vitamín, který nevykazuje toxicitu, je velmi dobře biokompatibilní, biodegradabilní, ale slabě rozpustný ve vodě [61; 62]. Slouží jako prekursor kofaktorů flavinmononukleotidu (FMN) a flavinadeninukleotidu (FAD), které se podílí v metabolismu na oxidačně-redukčních procesech [63; 64]. RF podléhá v mechanismu PDT jak typu I, tak typu II RF a jeho deriváty se používají jako PS v terapeutické léčbě pro zničení a deaktivaci různých virů a bakterií [65]. Díky svým vlastnostem je RF slibným kandidátem na PS, který lze použít v PDT k léčení nádorových onemocnění.

Výhoda syntetických fotosenzitizerů oproti přírodním je možnost jejich modifikace dle potřeb a zlepšení jejich vlastností, které jsou klíčové pro možnou aplikaci v PDT. Může být zvýšena jejich rozpustnost alkylací uracilové části, nebo zlepšeny optické vlastnosti prodloužením konjugovaného jádra pro absorpci ve vlnových délkách odpovídající infračervené oblasti spektra.

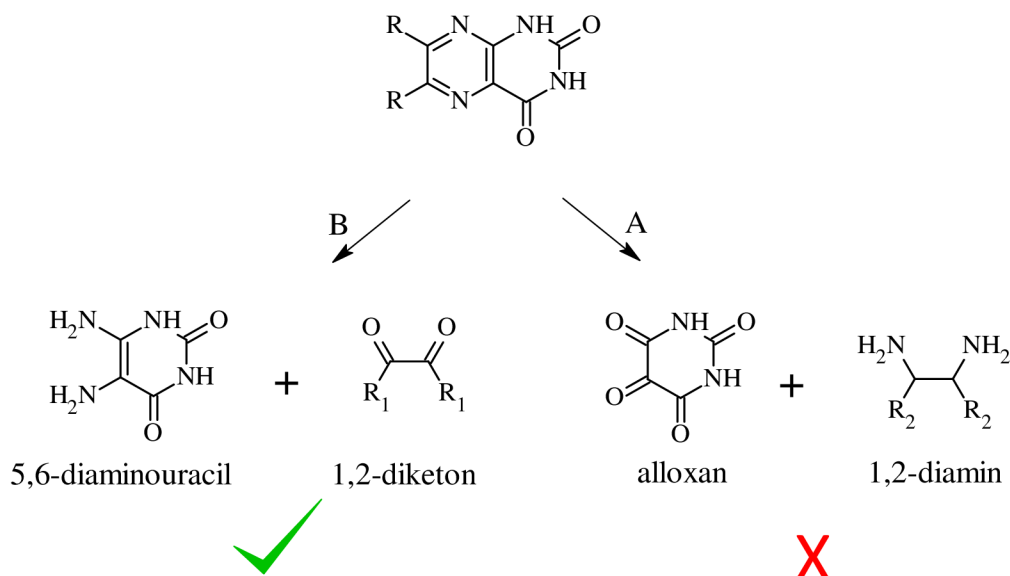


Obrázek 6 Struktura riboflavinu

Skupina flavinových látek nepopisuje jenom riboflavin (isoalloxazin) a jeho deriváty, ale také isomerní struktury alloxaziny, lumaziny atd. Alloxaziny jsou synteticky dostupnější a mají vyšší fotostabilitu. Obecně je lze připravit dvěma způsoby, které podrobně popsal Richtár a kol. [59].

Přístup A se používá zejména pro přípravu kondenzovaných aromatických flavinů z aromatických 1,2-diaminů. Zahrnuje kondenzaci 1,2-diaminu s alloxanem v neutrálním nebo kyselém prostředí (kyselina octová, kyselina trihydrogenboritá). Byly použity komerční 1,2-diaminy, zatímco alloxan lze připravit oxidací kyseliny barbiturové s oxidem chromovým v kyselém prostředí ledové kyseliny octové.

Přístup B je nejvhodnější pro přípravu nekondenzovaných aromatických flavinů pomocí 1,2-diketonů a 5,6-diaminouracilů, protože syntéza 1,2-diketonů je snadněji dostupná než syntéza odpovídajících 1,2-diaminů. Syntéza zahrnuje kondenzaci 1,2-diketonu s 5,6-diaminouracilem za kyselých podmínek (kyselina octová, methanol/voda/tetrahydrofuran).



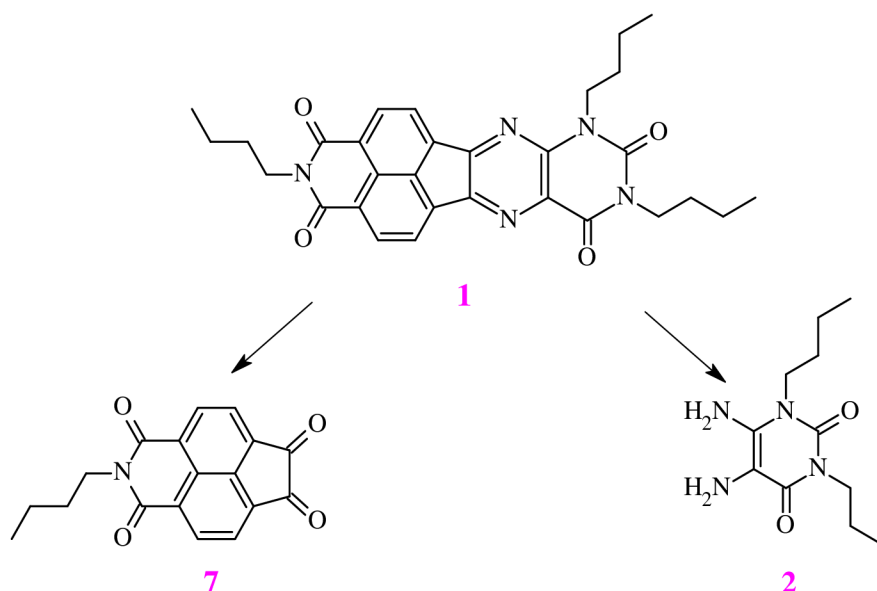
Obrázek 7 Zobrazení přístupu A a přístupu B pro přípravu flavinového derivátu

Nesubstituované aromatické deriváty flavinů jsou v běžných organických rozpouštědlech slabě rozpustné kvůli silné interakci intramolekulárních vodíkových můstků, což omezuje práci pro jejich zpracování. Richtár a kol. zvýšili rozpustnost těchto derivátů připojením alkylových substituentů na atomy dusíku v polohách *N1* a *N3* alloxazinového jádra, což zamezí interakci intramolekulárních vodíkových můstků [66].

## 2.1.6 Příprava flavinového derivátu s acenaftenovým systémem

Kvůli špatné rozpustnosti flavinů jsou ze syntetických reakcí izolovány jejich nízké výtěžky. Přístup B, který by pravděpodobně poskytoval vysoké výtěžky, je vhodný pro přípravu flavinů kondenzací už alkylovaného uracilu s diketonem. Literatura uvádí více možných řetězců pro substituci uracilu, butylové řetězce jsou obecně využívány a slouží jako modelové alkylové řetězce pro přípravu substituovaného uracilu.

Prekurzory pro přípravu doposud publikovaných diketonových derivátů byly jednoduché nekondenzované diketony (např. 2,2'-thenil, 2,2'-pyridil) nebo kondenzované aromáty (9,10-fenanthredion) [59]. 1,2-diketon s pokročilým konjugovaným systémem obsahujícím heteroatom nebyl doposud zkoumáný. Pro studii bakalářské práce byl vybrán acenaftenový diketonový prekurzor **7**, jehož syntéza je popsána v literatuře a poskytuje vysoké výtěžky. Aromatické jádro acenaftenu rozšíří konjugovaný systém flavinového derivátu, což zajistí posun absorpčního maxima do červené oblasti spektra. Zavedené alkylové skupiny zvýší rozpustnost cílového flavinového derivátu.

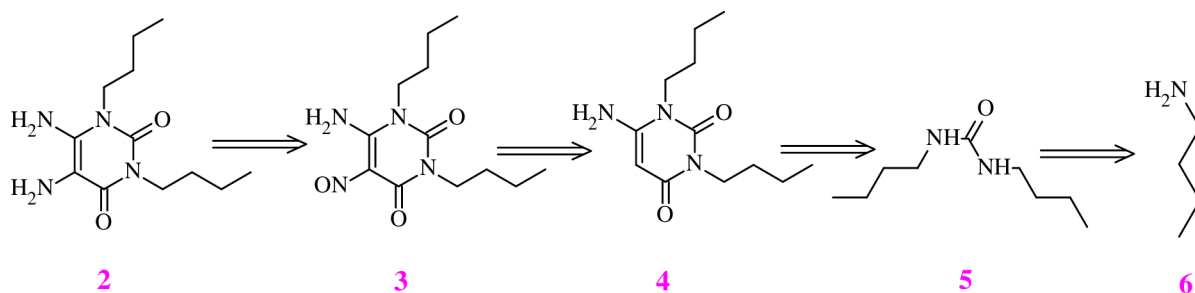


Obrázek 8 Naznačení přípravy flavinového derivátu **1**

### 2.1.6.1 Příprava uracilového prekurzoru

Příprava uracilové části se skládá ze čtyřkrokové syntézy. Syntéza začíná přípravou *N,N'*-dibutylmočoviny **5**, která vzniká reakcí butylaminu **6** a karbonyldiimidazolu **12** (CDI) [67]. 6-amino-1,3-dibutyluracil **4** vzniká kondenzací *N,N'*-dibutylmočoviny a kyanooctové kyseliny v přítomnosti acetanhydridu, následně dojde ke katalyzované cyklizaci pomocí báze NaOH. Nitrosací 6-amino-1,3-dibutyluracilu vznikne 6-amino-1,3-dibutyl-5-nitrosouracil **3**, který se redukuje za vzniku 5,6-diamino-1,3-dibutyluracilu **2** [68].

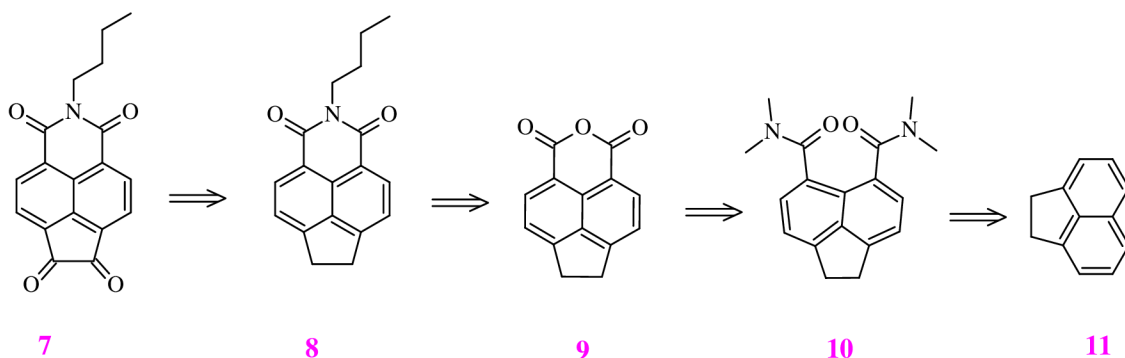




Obrázek 9 Retrosyntetická cesta uracilové části flavinového derivátu

### 2.1.6.2 Příprava diketonového prekurzoru

Příprava diketonové části flavinového derivátu se skládá ze čtyřkrokové syntézy. První krok syntézy probíhá mechanismem Friedel-Craftsovy acylace za přítomnosti Lewisovy kyseliny chloridu hlinitého ( $\text{AlCl}_3$ ), vstupní látka acenaften **11** reaguje s dimethylkarbamoyl chloridem za vzniku  $N^5, N^5, N^6, N^6$ -tetramethyl-1,2-dihydroacenaftalen-5,6-dikarboxamidu **10**, který se rozpustí v koncentrované kyselině octové, vzniká tak anhydrid kyseliny 5,6-acenaftendikarboxylové **9** [69]. Anhydrid podléhá aminaci za vzniku 2-butyl-6,7-dihydro-1*H*-indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3(2*H*)-dionu **8**, který je oxidován oxidem chromovým na 2-butyl-1*H*-indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3,6,7(2*H*)-tetron **7**, což je finální struktura 1,2-diketonu [70].



Obrázek 10 Retrosyntetická cesta pro přípravu diketonové části flavinového derivátu

## 2.2 Použité analytické metody

### 2.2.1 Nukleární magnetická rezonance (NMR)

Nukleární magnetická rezonanční spektroskopie, nebo-li NMR spektroskopie (*z angl. Nuclear magnetic resonance spectroscopy*), je fyzikálně-chemická metoda, která se používá pro analýzu molekul. Jedná se o kvalitativní analýzu, určuje složení a strukturu analyzovaných molekul.

Na spiny atomového jádra molekuly působí konstantní magnetické pole o indukcii  $B_0$ , které vyvolá rozštěpení základního energetického stavu jádra na dvě hladiny. Atomová jádra se nasměrují podle směru tohoto pole. Hladiny se energeticky liší od základního stavu, jedna má nižší energii, druhá naopak vyšší. Hladina s nižší energií bude mít větší počet jader, zatímco na hladině s vyšší energií bude úbytek jader. Čím bude magnetické pole silnější, tím bude větší rozštěpení hladin. Jestliže na takto rozdělený spinový systém bude působit radiofrekvenční záření, dochází k absorpci tohoto záření a k excitaci jednotlivých spinů na vyšší hladinu. Jakmile je ozářování systému ukončeno, dochází k deexcitaci, která je měřena. Pro měření jsou nejvýhodnější jádra s nenulovým spinem, např.  $^1\text{H}$  nebo  $^{13}\text{C}$  [71].

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Všeobecné informace k provedeným experimentům a použitým přístrojům

Veškeré experimenty byly provedeny podle postupů uvedených v literatuře. Pro provedení experimentů byly použity komerčně dostupné chemikálie a rozpouštědla v takovém stavu, v jakém byly doručeny od výrobců AcroSeal<sup>®</sup>, Erba *Lachema, a. s.*, Lach-Ner, s. r. o., Penta, s. r. o., Sigma-Aldrich, Thermo Scientific, pokud nebylo v postupu napsáno jinak. Látky byly chráněny proti vlhkosti ve vysušených baňkách naplněných argonovou atmosférou s teflonovým uzávěrem, gumovým septem, skleněnou či plastovou zátkou. Rozpouštědla a látky v kapalném skupenství byly od vlhkosti a kyslíku chráněny pomocí injekční stříkačky. Organické látky byly sušeny síranem sodným Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, rozpouštědla byla odpařována pomocí rotační odparky HeidolphHei-VAP Precision (Heidolph, Schwabach, Německo).

Retenční faktory byly měřeny na destičkách Supelco 60 TLC Plates (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) pro tenkovrstvou chromatografii (TLC) s 254 nm fluorescentním indikátorem. Skvrny byly monitorovány lampou s UV světlem o vlnových délkách 254 a 354 nm. Pro sloupcovou chromatografii byl použit jako stacionární fáze Silikagel 60 Å (220–440 mesh).

<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C spektra nukleární magnetické rezonanční spektroskopie (NMR) byly měřené přístrojem Bruker Avance III 500 MHz (Bruker, Billerica, MA, USA) s frekvencí 500 MHz a 126 MHz při teplotě 30 °C v deuterovaném chloroformu (CDCl<sub>3</sub>). Chemický posun  $\delta$  je popsán v jednotkách [ppm], vztahují se na referenční signál CDCl<sub>3</sub>. Interakční konstanta  $J$  je popsána v jednotkách [Hz]. Jednotlivé interakce jsou popsány následovně: s – singlet, d – dublet, d – dublet tripletu, t – triplet, m – multiplet. Body tání byly naměřeny pomocí Koflerova bodotávku v kombinaci s mikroskopem Nagema PHMK 05 (Nagema, Drážďany, Německo).

Pro vyhodnocení naměřených dat byly použity programy MestreNova (NMR), jako textový editor byl použit Microsoft Word 365 a reakční schémata i struktury byly vytvořeny v programu ACD/ChemSketch.

### 3.2 Seznam použitých chemikálií

Acenaften (7); 97%; Thermo Scientific

Anhydrid kyseliny octové čistý; Erba Lachema, a. s.

Butylamin (6); 99,5%; Sigma-Aldrich

Celit<sup>®</sup>; Merck KGaA

Dichlormethan (DCM); 99,8%; p. a.; Penta, s. r. o.

Difenylkarbonát (13); ReagentPlus<sup>®</sup>; 99%; Sigma-Aldrich

Dimethylkarbamoyl chlorid (DMCC); 96%; Thermo Scientific

Dithioničitan sodný; Sigma-Aldrich

Dusitan sodný; Erba Lachema, a. s.

Ethanol (EtOH); 99%; p. a.; Penta, s. r. o.

Hydrazin hydrát čistý; Penta, s. r. o.

Hydroxid amonný – vodný roztok; min. 25%; p. a.; Lach-Ner, s. r. o.

Hydroxid sodný mikroperličky; p. a.; Lach-Ner, s. r. o.

Chlorid hlinitý bezvodý; Sigma-Aldrich

Chlorbenzen; 99,5%; Extra suchý s molekulovým sítem; AcroSeal<sup>®</sup>

Chloroform (CHCl<sub>3</sub>); 99,8%; p. a.; Penta, s. r. o.

Karbonyldiimidazol (CDI, 12); Fluorochem Ltd.

Kyselina chlorovodíková; 35%; čistá; Penta, s. r. o.

Kyselina kyanooctová; 99%; Sigma Aldrich

Kyselina octová; 99,8%; ledová; Penta, s. r. o.

Methanol (MeOH); Penta, s. r. o.

Oxid chromový; p. a.; Penta, s. r. o.

Síran sodný bezvodý čistý; Penta, s. r. o.

Toluen; Penta, s. r. o.

Uhličitan sodný bezvodý čistý; Erba Lachema, a. s.

### 3.3 Syntéza substituovaného uracilového motivu

#### 3.3.1 Příprava *N,N'*-dibutylované močoviny **5**

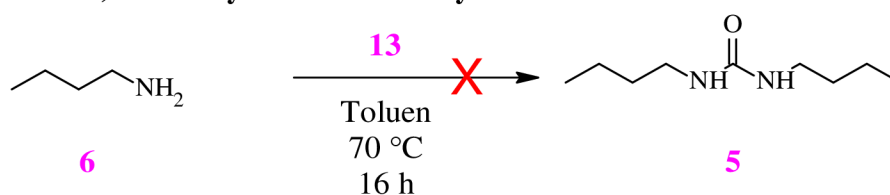


Schéma 1 Syntéza látky **5**

Pro tento experiment byla butylmočovina **6** (2 g, 27,35 mmol) rozpuštěna v 15 ml toluenu, poté se přidala látka **13** (3,52 g, 16,41 mmol). Reakční směs byla míchána při 70 °C po 16 hodin. Během míchání přešla reakční směs z bezbarvé na žlutou barvu, později až zčervenala. Po ukončení reakce byla směs ochlazená na laboratorní teplotu, promyta vodou (2×5 ml), 15% kyselinou chlorovodíkovou (15 ml), znovu vodou (15 ml), solankou (15 ml), vysušena síranem sodným a rozpouštědlo bylo odpařeno pomocí vakuové odpary. Získaná pevná látka byla zfiltrována. Nepodařilo se izolovat produkt **5**, experiment byl vyhodnocen jako neúspěšný, a proto byl vykonán dle změněných podmínek.

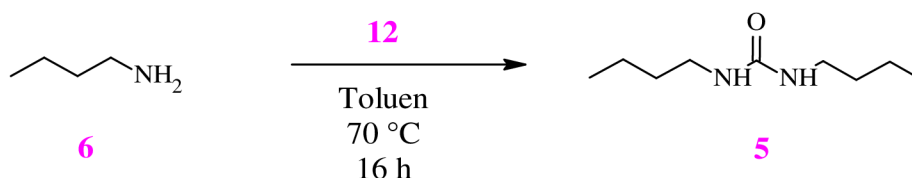
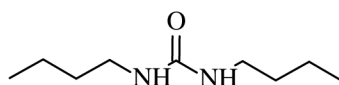


Schéma 2 Syntéza látky **5** (optimalizované podmínky)

Butylmočovina **6** (2 g, 27,34 mmol) byla rozpuštěna v bezvodém toluenu (15 ml). Poté byla látka **12** (2,66 g, 16,40 mmol) přidána pod argonem k reakční směsi. Byla pozorována exotermická reakce, kdy se směs samovolně zahřála. Směs byla míchána přes noc při 70 °C. Reakční směs byla ochlazená na laboratorní teplotu, promyta vodou (2×5 ml), 15% kyselinou chlorovodíkovou (15 ml), znovu vodou (15 ml), solankou (15 ml), vysušena síranem sodným a rozpouštědlo bylo odpařeno pomocí vakuové odpary. Pevná látka byla zfiltrována a po 4 hodinách promyta acetonem. Pevný produkt **5** byl získán ve formě bílé látky (1,47 g, 62,4 %).

#### *N,N'*-dibutylovaná močovina **5**



**Molekulový vzorec:** C<sub>9</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O

**Molekulová hmotnost:** 172,27 g·mol<sup>-1</sup>

**Bod tání:** 70,6–72,1 °C (lit. 65–75 °C [72])

**Rf:** 0,91 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 95:5)

### 3.3.2 Příprava 6-amino-1,3-dibutyluracilu **4**

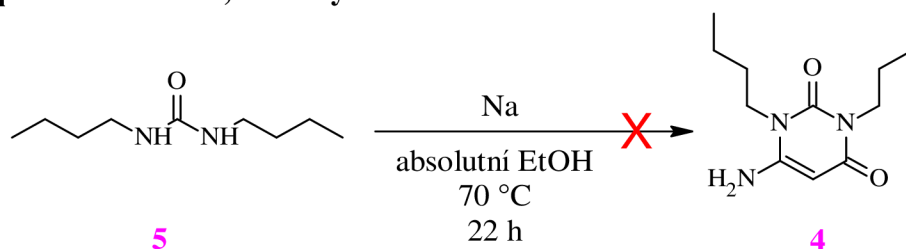


Schéma 3 Syntéza látky **4**

Sodík (10,2 g, 16,25 mmol) byl rozpuštěn v absolutním ethanolu (220 ml). K této směsi byl přidán ethyl-2-kyanoacetát (0,86 ml, 8,13 mmol) a látka **5** (1,4 g, 8,13 mmol). Směs byla míchána při 70 °C po dobu 22 hodin. Reakční směs postupně měnila barvu ze žluté na oranžovou až tmavě hnědou. Reakce byla ukončena, rezidua byla rozpuštěna ve vodě a pH bylo upravenou koncentrovanou HCl na hodnotu 7. Po filtraci byla získána nažloutlá pevná forma, promyta destilovanou vodou a sušena pod vakuem. Byla izolována bílá pevná látka. Byl změřen bod tání, který ukázal, že se nejedná o meziprodukt **4**, ale výchozí látku **5**. Reakce tudíž neproběhla, experiment byl prohlášen za neúspěšný, podmínky byly optimalizovány.

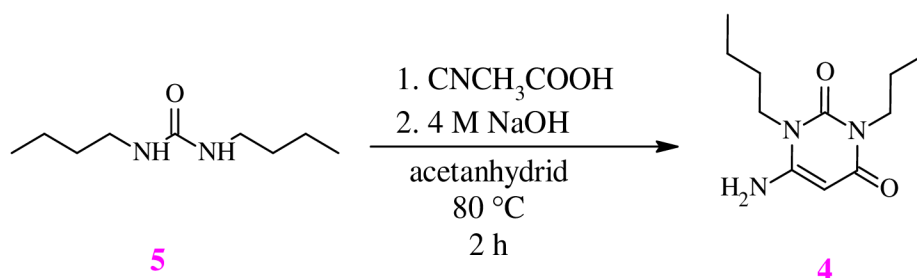
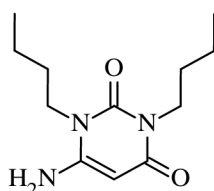


Schéma 4 Syntéza látky **4** (optimalizované podmínky)

Do 100 ml baňky byla dána látka **5** (4,24 g, 24,61 mmol), kyselina kyanooctová (2,4 g, 28,30 mmol) a anhydrid kyseliny octové (9,31 ml, 98,45 mmol). Směs byla zahřívána při 80 °C 2 hodiny. Po 2 hodinách se směs změnila ze žluté na tmavě červenou. Reakční směs byla zakonzentrována odpařením rozpouštědla, surová směs byla rozpuštěna v methanolu (12 ml), ochlazená v ledové lázni a dále byl přidán 4 M roztok hydroxidu sodného (12 ml), kdy došlo k pozorování vyloučené pevné látky. Reakční směs byla míchána 30 minut za neustálého chlazení. Pevný podíl byl zfiltrován a vysušen za vzniku bílé pevné látky (5,37 g, 91,8 %).

#### 6-amino-1,3-dibutyluracil **4**



**Molekulový vzorec:** C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
**Molekulová hmotnost:** 239,31 g·mol<sup>-1</sup>

**Bod tání:** 72,9–80,0 °C (lit. 90,1–92,4 °C [68])

**Rf:** 0,65 (EtOH/Toluen; 50:50)

### 3.3.3 Příprava 6-amino-1,3-dibutyl-5-nitrosouracilu **3**

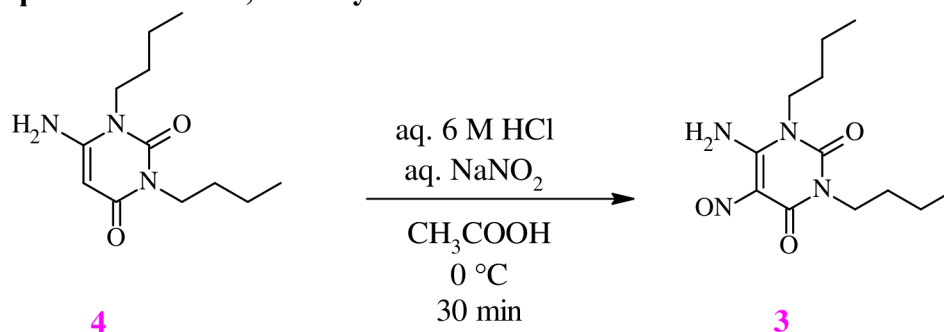
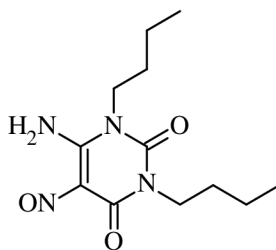


Schéma 5 Syntéza látky **3**

Látka **4** (5 g, 20,89 mmol), ledová kyselina octová (2,25 ml) a 6 M kyselina chlorovodíková (4,25 ml) byly chlazeny v ledové lázni. Dusitan sodný (1,44 g, 20,89 mmol) byl přidáván ke směsi po kapkách. Reakční směs byla míchána 30 minut, změnila barvu z bílé na fialovou, dále byla zfiltrována, promyta vodou (2×20 ml). Produkt **3** (> 99%) byl použit do dalšího experimentu pro přípravu 5,6-diamino-1,3-dibutyluracilu **2**.

#### 6-amino-1,3-dibutyl-5-nitrosouracil **3**



**Molekulový vzorec:** C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

**Molekulová hmotnost:** 268,31 g·mol<sup>-1</sup>

**Bod tání:** 199,7–201,5 °C (lit. 199–205 °C [68])

**Rf:** 0,81 (EtOH/Toluen, 50:50)

### 3.3.4 Příprava 5,6-diamino-1,3-dibutyluracilu **2**

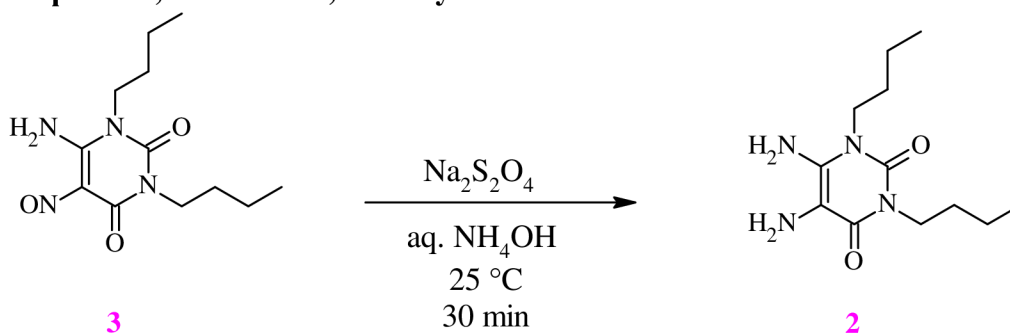
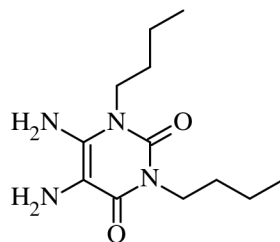


Schéma 6 Syntéza látky **2**

Látka **3** (5,61 g, 20,91 mmol) byla za laboratorní teploty rozpuštěna ve vodném roztoku hydroxidu amonného (35 ml). Reakční směs změnila barvu z fialové na oranžovou. Dithioničitan sodný (10,92 g, 62,73 mmol) byl přidán k reakční směsi během 30 minut. Po přidání veškerého dithioničitanu sodného změnila reakční směs barvu na tmavě zelenou. Reakční směs byla extrahována dichlormethanem (3×20 ml), promyta nasyceným roztokem NaCl, vysušena síranem sodným a zfiltrována přes celit. Rozpouštědlo bylo odpařeno za vzniku tmavě zeleného oleje. Látka **2** (4,22 g) byla za laboratorní teploty přilita ke koncentrované kyselině chlorovodíkové (70 ml). Reakční směs změnila barvu na bílou za vzniku hydrochloridové soli, která byla zfiltrována a opatrně promyta vodou. Po zpracování byl izolován produkt **2** (4,17 g, 68,6 %).

#### 5,6-diamino-1,3-dibutyluracil **2**



**Molekulový vzorec:**  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2$

**Molekulová hmotnost:**  $290,79\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

**Bod tání:**  $190,1\text{--}193,0\text{ }^\circ\text{C}$  (lit.  $235\text{ }^\circ\text{C}$  [73])

**Rf:** 0,73 (EtOH/Toluen, 50:50)

### 3.4 Syntéza diketonového prekurzoru

#### 3.4.1 Příprava *N*<sup>5</sup>,*N*<sup>5</sup>,*N*<sup>6</sup>,*N*<sup>6</sup>-tetramethyl-1,2-dihydroacenaftthylen-5,6-dikarboxamidu **10**

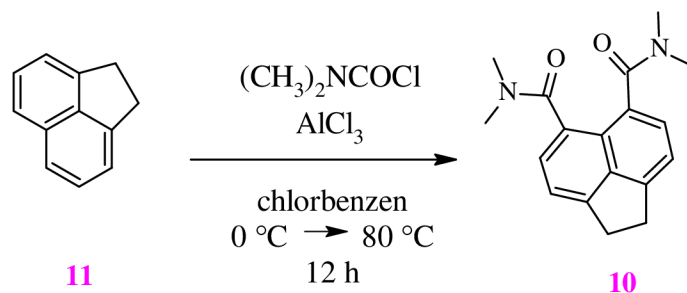
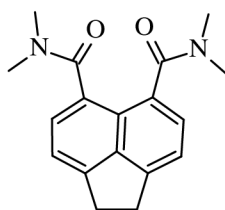


Schéma 7 Syntéza látky **10**

V trojhrdlé baňce, naplněné argonem, byla látka **11** (2,0 g, 12,97 mmol) rozpuštěna v bezvodém chlorbenzenu (20 ml). Dimethylkarbamoyl chlorid (DMCC) (6,68 g, 34,24 mmol) byl přidán po kapkách. Chlorid hlinitý (4,64 g, 34,76 mmol) byl přidán po částech při 0 °C. Reakční směs byla zahřívána při 80 °C na reflux 12 hodin. Po 12 hodinách byla směs ochlazena na 0 °C, byl přidán DMCC (2,33 g, 21,66 mmol) a po částech chlorid hlinitý (3,20 g, 23,99 mmol). Tmavě hnědá reakční směs byla zahřívána při 80 °C na reflux dalších 12 hodin. Poté byla směs ochlazena na laboratorní teplotu a nalita do studené, 5% kyseliny chlorovodíkové (150 ml). Organická fáze byla extrahována chloroformem, promyta roztokem uhličitanu sodného, vodou, nasyceným roztokem chloridu sodného a sušena síranem sodným. Chlorbenzen byl ze směsi odpařen. Produkt **10** byl získán rekrystalizací z chlorbenzenu ve formě bílé pevné látky (1,09 g, 54,60 %).

#### *N*<sup>5</sup>,*N*<sup>5</sup>,*N*<sup>6</sup>,*N*<sup>6</sup>-tetramethyl-1,2-dihydroacenaftthylen-5,6-dikarboxamid **10**



**Molekulový vzorec:**  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$

**Molekulová hmotnost:**  $296,36\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

**Bod tání:** 132,6–134,0 °C

**Rf:** 0,77 (DCM)

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta$  7,72 (d;  $J = 8,6\text{ Hz}$ ; 1H); 7,21 (d;  $J = 8,6\text{ Hz}$ ; 1H); 3,52 (s; 2H); 3,00 (s; 6H)



### 3.4.2 Příprava anhydridu kyseliny 5,6-acenaftendikarboxylové **9**

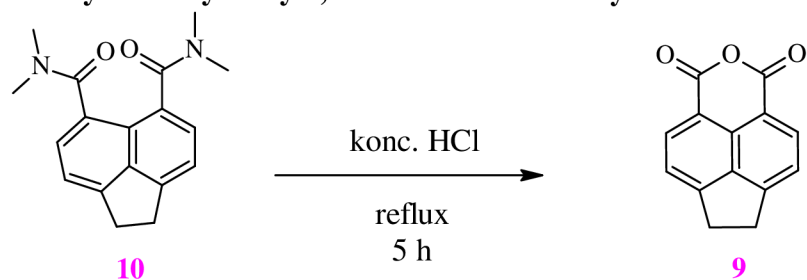
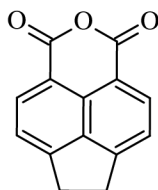


Schéma 8 Syntéza látky **9**

Látka **10** (2 g, 13,5 mmol) byla nalita do koncentrované kyseliny chlorovodíkové (30 ml). Reakční směs byla zahřívána k refluxu 5 hodin, potom byla zchlazena na 0 °C. Vyloučený precipitát byl zfiltrován a promyt studenou vodou. Surový produkt byl rekrystalizován v horké kyselině octové (70 ml, reflux) za vzniku bílého produktu ve formě jehliček (1,09 g, 72 %).

#### Anhydrid kyseliny 5,6-acenaftendikarboxylové **9**



**Molekulový vzorec:** C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>

**Molekulová hmotnost:** 224,21 g·mol<sup>-1</sup>

**Bod tání:** 277,7–280,1 °C

**Rf:** 0,55 (DCM)

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):** δ 8,50 (d; *J* = 7,4 Hz; 2H); 7,61 (dt; *J* = 7,6; 0,9 Hz; 2H); 3,61 (s; 4H)

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 126 MHz):** δ 160,93; 155,83; 138,17; 135,03; 129,31; 121,69; 115,59; 32,03

### 3.4.3 Příprava 2-butyl-6,7-dihydro-1*H*-indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3(2*H*)-dionu **8**

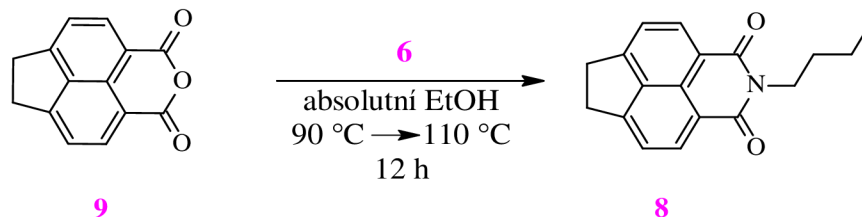
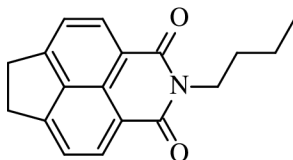


Schéma 9 Syntéza látky **8**

Látka **9** (0,355 g, 1,583 mmol) a butylamin **6** (0,133 g, 1,821 mmol) byly rozpuštěny v absolutním ethanolu (14 ml). Roztok byl zahříván k refluxu 12 hodin. Poté byl roztok ochlazen na laboratorní teplotu, pro ukončení reakce byla k roztoku přidána voda. Organická fáze byla extrahována dichlormethanem, promyta vodou, nasyceným roztokem chloridu sodného a sušena síranem sodným. Rozpouštědlo bylo odpařeno a surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií na koloně, dichlormethan byl použit jako eluent. Produkt **8** byl odebírán ve frakcích, rozpouštědlo bylo odpařeno a byl získán výtěžek (0,41 g, 93,4 %).

#### 2-butyl-6,7-dihydro-1*H*-indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3(2*H*)-dion **8**



Molekulový vzorec: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub>

Molekulová hmotnost: 279,33 g·mol<sup>-1</sup>

**Bod tání:** 137,2–137,9 °C

**R<sub>f</sub>:** 0,47 (DCM)

**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):** δ 8,46 (d; *J* = 7,3 Hz; 2H); 7,52 (dt; *J* = 7,4; 0,8 Hz; 2H); 4,21–4,14 (m; 2H); 3,54 (s; 4H); 1,76–1,66 (m; 2H); 1,44 (dt; *J* = 14,8; 7,5 Hz; 2H); 0,98 (t; *J* = 7,4 Hz; 3H)

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 126 MHz):** δ 164,50; 153,77; 137,90; 132,77; 126,54; 120,99; 119,44; 77,41; 77,16; 76,91; 40,24; 38,31; 31,80; 31,38; 30,53; 29,84; 20,57; 14,01

### 3.4.4 Příprava 2-butyl-1*H*-indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3,6,7(2*H*)-tetronu **7**

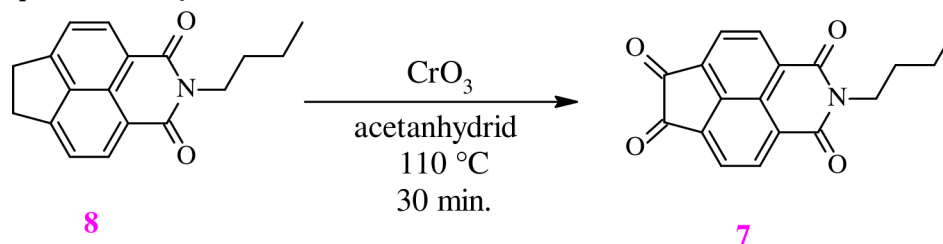
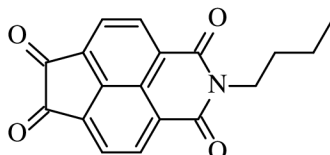


Schéma 10 Syntéza látky **7**

Látka **8** (0,41 g, 1,47 mmol) byla rozpuštěna v anhydridu kyseliny octové (40 ml). Ke směsi byl přidán oxid chromový (0,73 g, 7,34 mmol). Reakční směs byla zahřívána při 110 °C po dobu 30 minut. Do reakční směsi byl přidán led a celý systém byl smíchán s kyselinou chlorovodíkovou (5 ml), kdy se začala precipitovat pevná fáze. Surový produkt byl zfiltrován a promyt vodou. Produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií na koloně, dichlormethan byl použit jako mobilní fáze za zisku žlutého produktu **7** (0,25 g, 55,2 %).

#### 2-butyl-1*H*-indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3,6,7(2*H*)-tetron **7**



**Molekulový vzorec:** C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>

**Molekulová hmotnost:** 307,30 g·mol<sup>-1</sup>

**Bod tání:** 228,2–228,9 °C

**R<sub>f</sub>:** 0,35 (DCM)

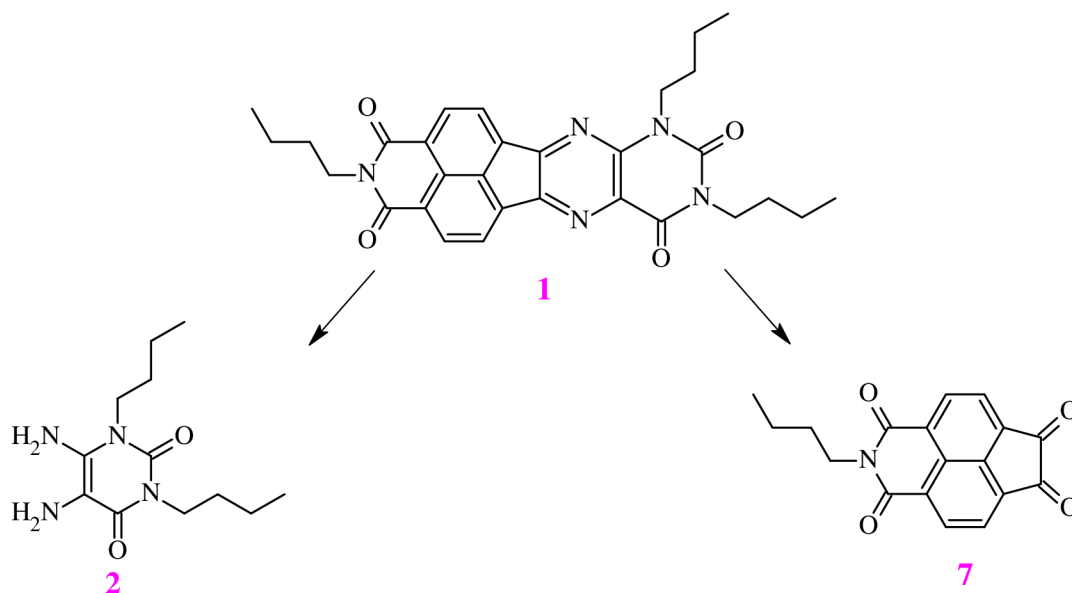
**<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):** δ 8,80 (d; *J* = 7,4 Hz; 2H); 8,34 (d; *J* = 7,3 Hz; 2H); 4,26–4,18 (m; 2H); 1,79 – 1,68 (m; 2H); 1,52–1,40 (m; 2H); 1,00 (t; *J* = 7,4 Hz; 3H)

**<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 126 MHz):** δ 186,35; 162,68; 143,91; 132,21; 126,96; 126,39; 123,02; 41,06; 30,33; 20,49; 13,93

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1 Prekurzory flavinového derivátu pro PDT

Flavinový derivát, molekula **1**, byl zvolen pro pokračování studie zabývající se možnostmi syntetických cest pro přípravu alkylovaného alloxazinového jádra.



Obrázek 11 Struktura cílového flavinového derivátu pro PDT a jeho prekurzorů

Pro přípravu flavinového derivátu je nutné nejprve syntetizovat alkylovaný uracilový a acenaftenový prekurzor. Tato práce je zaměřena na přípravy obou těchto látek podle postupů vyhledaných v literatuře. Struktura cílového flavinového derivátu pro PDT a jeho prekurzorů jsou zobrazeny na obrázku 11.

#### 4.1.1 Příprava alkylovaného uracilového motivu

Butylová skupina byla vybrána jako alkylační činidlo. Z hlediska menšího sterického bránění, oproti jiným postranním řetězcům, slouží jako model pro další studie. Pro přípravu látky **2** byly použity komerčně, cenově dostupné chemikálie. Příprava probíhá podle schématu 11, syntézy jsou podrobně popsány v následujících kapitolách.

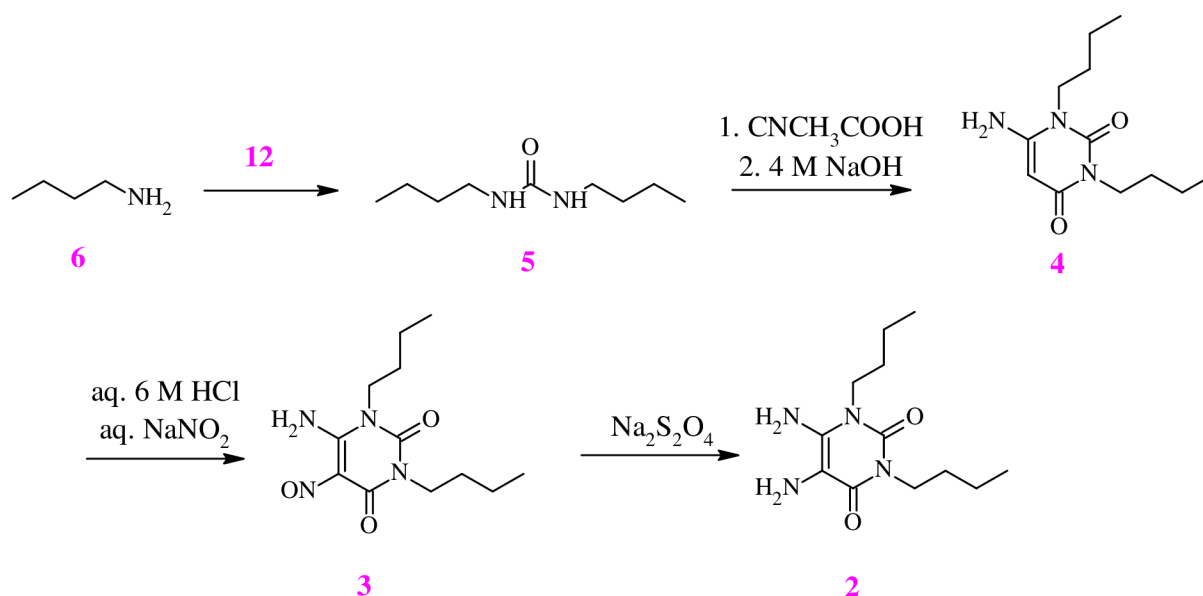


Schéma 11 Příprava alkylovaného uracilového prekurzoru

#### 4.1.1.1 Příprava *N,N'*-dibutylované močoviny **5**

Výchozí látkou pro přípravu alkylované močoviny byl komerčně dostupný butylamin **6**, který reagoval s látkou **12** při 70 °C. První přístup syntézy dibutylované močoviny byl reakcí látky **6** s difenylkarbonátem **13**. Během reakce bylo pozorováno menší uvolnění tepla než u reakce s karbonyldiimidazolem, meziprodukt se nepodařilo izolovat [67].

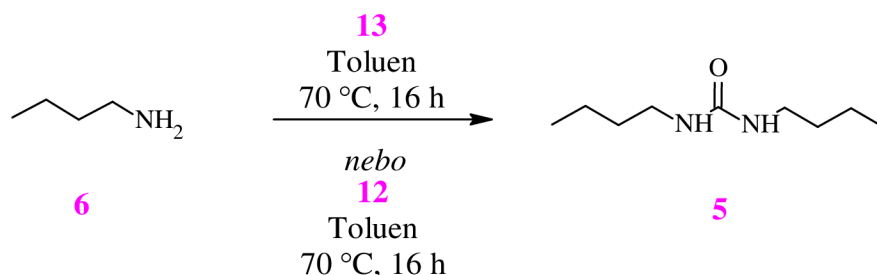


Schéma 12 Syntéza látky **5**, zobrazeny dva přístupy

Tabulka 2 Shrnutí reakčních podmínek pro přípravu látky **5**

Vstup	Reakční podmínky	Výtěžek [%]
1	<b>6</b> (1 ekv.); <b>13</b> (0,6 ekv.); Toluen; 70 °C; 16 hod	neizolováno
2	<b>6</b> (1 ekv.); <b>12</b> (0,6 ekv.); Toluen; 70 °C; 16 hod	62

Tabulka 2 zobrazuje reakční podmínky pro obě syntetické cesty. Byly vyzkoušeny 2 přístupy pro syntézu *N,N'*-dibutylované močoviny **5**. První přístup využívá látku **13**, po zpracování se reakční směs zbarvila do červena a látka nebyla izolována (Tabulka 2, vstup 2). Pro syntézu látky **5** byl proto vybrán přístup 2 [67]. Druhý přístup využívá reakci butylaminu s karbonyldiimidazolem, poskytující výtěžek 62 % (Tabulka 2, vstup 1). Močovina ve formě pevné, bílé látky byla rekrystalizována z acetonu.

Reakce s látkou **13** byla provedena podle literatury [74], kde byla látka **13** použita pro připojení glykolových řetězců na močovinu. O připojení glykolových řetězců na močovinu bude uvažováno v budoucí diplomové práci pro syntézu dalších flavinových derivátů.

*N,N'*-dibutylovaná močovina **5** je známá látka a její identita byla potvrzena změřením bodu tání, který odpovídal literatuře [72]. Po úspěšném dokončení syntézy byla močovina použita do dalšího experimentu jako výchozí látka pro syntézu 6-amino-1,3-dibutyluracilu **4**. Produkt **5** byl identifikován změřením bodu tání.

#### 4.1.1.2 Příprava 6-amino-1,3-dibutyluracilu **4**

Pro tuto reakci byla použita látka **5**, syntetizovaná v předchozím experimentu. Reakce probíhá mechanismem nukleofilní adice. Nejprve byl proveden postup využívající sodík pro přípravu nesubstituovaného uracilu. Tento postup nefungoval pro přípravu substituovaného uracilu, proto byla vyhledána další literatura využívající kyanooctovou kyselinu.

Byly prověřeny 2 přístupy. První přístup využíval rozpuštění sodíku v absolutním ethanolu za vzniku ethanolátu sodného, ve kterém byly rozpuštěny ethyl-2-kyanoacetát spolu s butylovanou močovinou. Reakce byla ukončena neutralizací kyselinou chlorovodíkovou. Po filtraci byla získána nažloutlá pevná látka, která byla promyta destilovanou vodou a sušena pod vakuem. (Tabulka 3, vstup 1) [75]. Získaný světle žlutý pevný produkt byl podroben identifikaci změřením bodu tání. Naměřený bod tání prokázal, že z reakce byla vyizolována nezreagovaná vstupní látka **5**.

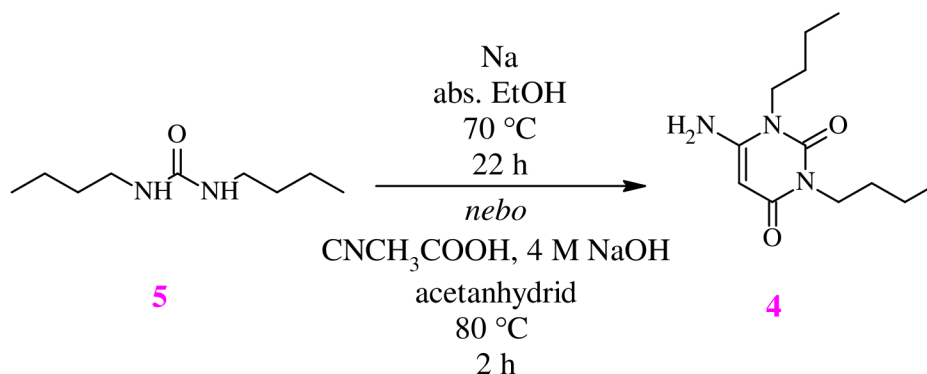


Schéma 13 Syntéza látky **4**, zobrazeny dva přístupy

Tabulka 3 Shrnutí reakčních podmínek pro přípravu látky **4**

Vstup	Reakční podmínky	Výtěžek [%]
1	<b>5</b> (1 ekv.); Na (2 ekv.); $\text{CNCH}_2\text{CO}_2$ (1 ekv.); 78 °C; 22 hod	Nevznikl produkt
2	<b>5</b> (1 ekv.); $\text{CNCH}_3\text{COOH}$ (1,15 ekv.); $\text{CNCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ (4 ekv.); 80 °C; 2 hod	92

Druhý přístup využívá reakci látky **5** s kyanooctovou kyselinou v anhydridu kyseliny octové při 80 °C po dobu 2 hodin. Došlo k barevné změně ze žluté na tmavě červenou a po zpracování směsi byl izolován meziprodukt s 92% výtěžkem (Tabulka 3, vstup 2). Identifikace molekuly **4** byla provedena pomocí změření bodu tání.

#### 4.1.1.3 Příprava 6-amino-1,3-dibutyl-5-nitrosouracilu **3**

Výchozí látkou pro přípravu látky **3** byla použita látka **4** z předchozího experimentu, reakce probíhá mechanismem elektrofilní substituce [68]. Jedná se o reakci, při které je elektrofil nahrazen jiným elektrofilem, v tomto případě je vodík nahrazen nitrosylovým kationtem. Nitroso skupina se zavádí na volnou pozici C(5) molekuly uracilu.

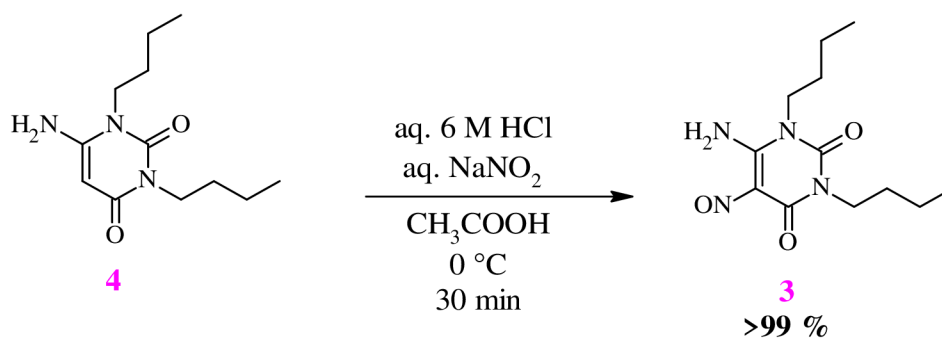


Schéma 14 Syntéza látky **3**

Látka **4** (1 ekv.) a 6 M HCl (1 ekv.) byly míchány v ledové kyselině octové při 0 °C, dusitan sodný byl přidáván po kapkách (1 ekv.). Reakce byla chlazená při 0 °C, protože během rozpouštění dusitanu sodného bylo uvolňováno velké množství tepla, jedná se o exotermní reakci. Z izolovaného výtěžku bylo menší množství odebráno pro pozdější analýzu, zbytek meziproduktu byl ihned použit do následujícího experimentu pro přípravu finálního produktu, 5,6-diamino-1,3-dibutyluracilu **2**. Látka **3** byla identifikována změřením bodu tání.

#### 4.1.1.4 Příprava 5,6-diamino-1,3-dibutyluracilu **2**

Redukce nitroso skupiny u 6-amino-1,3-dibutyl-5-nitrosouracilu **3** byla provedena dithioničitanem sodným, který byl použit jako redukční činidlo [68]. Dithioničitan sodný byl vybrán pro svou rozpustnost ve vodě, dostupnost a příznivou pořizovací cenu. Dalším redukčním činidlem může být sulfid amonný.

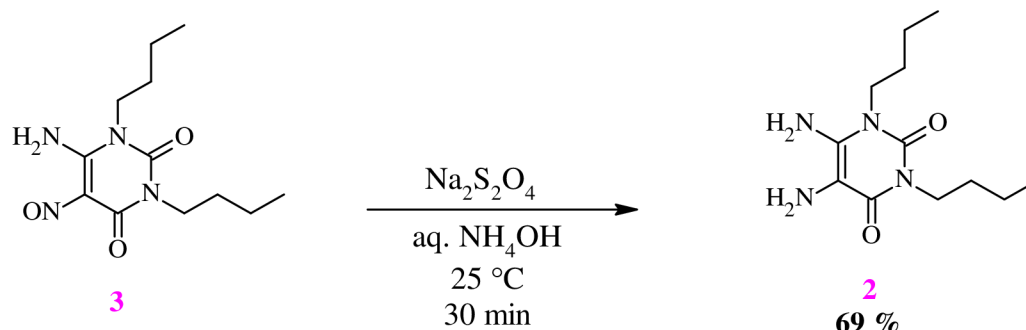


Schéma 15 Syntéza látky **2**

Látka **3** (1 ekv.) byla rozpuštěna ve vodném roztoku hydroxidu amonného. Dithioničitan sodný (3 ekv.) byl přidáván postupně během 30 minut. Reakční směs změnila barvu na tmavě zelenou, byla extrahována pomocí DCM, promyta nasyceným roztokem NaCl a zfiltrována přes celit. Rozpouštědlo bylo odpařeno a produkt byl získán ve formě zeleného oleje, který byl přilít do koncentrované HCl. Diaminy jsou nestabilní, proto byl produkt pomocí koncentrované HCl převeden na hydrochlorid, který je stabilnější. Po zfiltrování měl produkt světle žlutou barvu, jeho vystavením vlhkosti po delší době změnil produkt barvu na růžovou, proto je uchován pod argonovou atmosférou v lednici. Látka **2** byla identifikována změřením bodu tání.

#### 4.1.2 Příprava 1,2-diketonového prekurzoru

Acenaften **11** byl vybrán jako vhodný prekurzor pro přípravu flavinového derivátu, protože jeho konjugovaný systém umožní prodloužit flavinový derivát, což zajistí posun k vyšším vlnovým délkám. Navíc příprava finálního diketonu je popsána v literatuře a reakce poskytují vysoké výtěžky [76]. Příprava diketonového prekurzoru probíhá podle schématu 16, syntézy jsou podrobně popsány v následujících kapitolách.

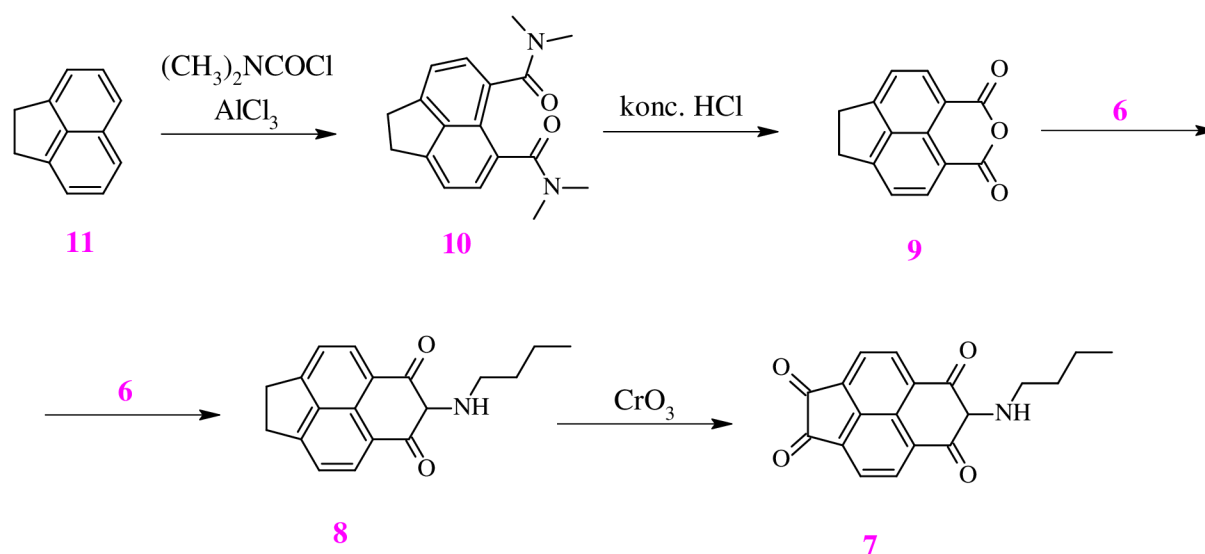


Schéma 16 Syntéza 1,2-diketonového prekurzoru

#### 4.1.2.1 Příprava $N^5,N^5,N^6,N^6$ -tetramethyl-1,2-dihydroacenaftalen-5,6-dikarboxamidu **10**

První krok syntézy probíhá mechanismes Friedel-Craftsovy acylace. Friedel-Craftsova acylace je typ elektrofilní aromatické substituce, kdy se na aromatické jádro napojuje acylační činidlo, nejčastěji se používá acylchlorid. Pro reakci je dále důležitá Lewisova kyselina, nejpoužívanější je chlorid hlinitý. Friedel-Craftsova acylace se běžně používá ve výrobě některých barviv, např. triarylmethanových barviv [77]. Friedel-Craftsova acylace probíhá na aromatickém jádře za přítomnosti Lewisovy kyseliny, v tomto případě chloridu hlinitého. Dochází k připojení acylové skupiny na volné pozice aromatického jádra acenaftenu **11**. Friedel-Craftsova acylace je exotermická reakce, proto se při přidávání DMCC snižuje teplota, je tím zajištěna selektivita reakce. [69].

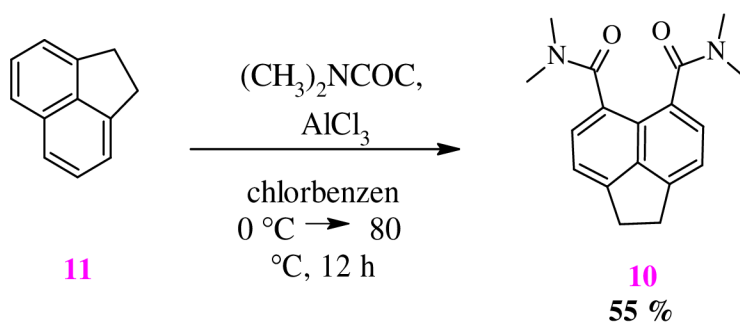


Schéma 17 Syntéza látky **10**

Nejprve byl vyzkoušen postup dle literatury [76], ale po vyhodnocení  $^1\text{H}$  NMR spektra bylo zjištěno, že substituce proběhla pouze do 1. stupně. Proto byla vyhledána další literatura, která uvádí větší množství reagentů, aby proběhla substituce do 2. stupně. Acenaftene **11** (1 ekv.) reagoval s chloridem hlinitým (2,64 ekv.), a s acylačním činidlem DMCC (2,64 ekv.), směs byla ponechána 12 hodin reagovat, byla znovu ochlazená a poté se znovu přidal chlorid hlinitý (1,85 ekv.) s DMCC (1,67 ekv.). Reakční směs byla zahřívána dalších 12 hodin při refluxu. Reakce byla ukončena přidavkem 5% HCl. Po zpracování a rekrystalizaci v chlorbenzenu byl získán výtěžek 55 %.

Opakované přidání chloridu hlinitého a DMCC zajistí obsazení na obou volných pozicích aromatického jádra acylovými skupinami. Vyšší teplota podporuje substituční reakci. Produkt **10** byl potvrzen  $^1\text{H}$  spektroskopii. Acenaftene je toxický pro vodní prostředí, po ukončení reakce byl náležitě zpracován dle bezpečnostních norem.

#### 4.1.2.2 Příprava anhydridu kyseliny 5,6-acenaftendikarboxylové **9**

Příprava meziprojektu **9** vedla k zavedení anhydridové funkční skupiny kondenzační reakcí, která je významná pro následné zavedení butylového řetězce podporujícího rozpustnost [69].

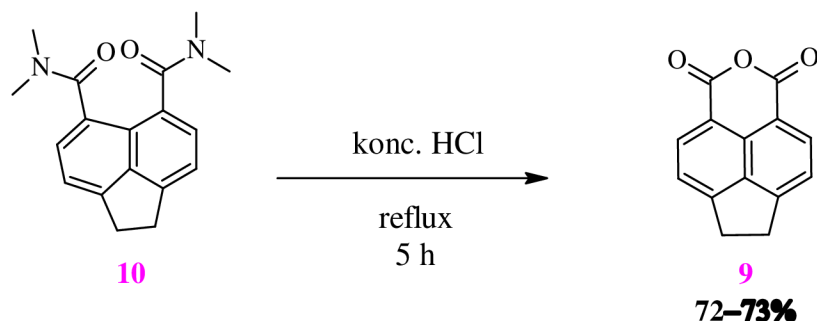


Schéma 18 Syntéza látky **9**

Látka **10** byla rozpuštěna v koncentrované kyselině chlorovodíkové (3 ekv.) za vzniku látky **9** [69]. Reakce probíhá při refluxu po dobu 5 hodin. Po filtraci a rekrystalizaci byl izolován pevný meziprojekt



s výtěžkem 72 %. Po opakování reakce byl izolován obdobný výtěžek, 73 %. Anhydrid byl charakterizován  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopií.

#### 4.1.2.3 Příprava 2-butyl-6,7-dihydro-1H-indeno[6,7,1-def]isoquinolin-1,3(2H)-dionu 8

Látka 9 podléhá nukleofilní substituci s butylaminem na aromatickém jádře acenaftenu 11 [70].

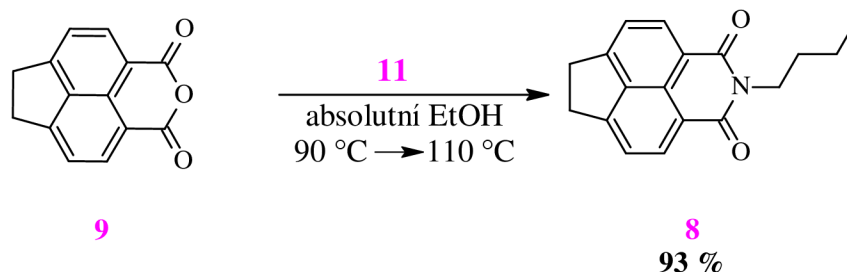


Schéma 19 Syntéza látky 8

Látka 9 (1 ekv.) a látka 11 (1,15 ekv.) byly rozpuštěny v absolutním ethanolu a reakce probíhala za refluxu po dobu 12 hodin. Pevný podíl byl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, dichlormethan). Byl izolován pevný produkt 8 nažloutlé barvy s tyrkysovou emisí (při ozařování UV světlem) s výtěžkem 93 %. Charakterizace produktu proběhla pomocí  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopie.

#### 4.1.2.4 Příprava 2-butyl-1H-indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3,6,7(2H)-tetronu 7

Příprava finálního prekursoru pro tvorbu flavinového skeletu 1 vyžaduje zavedení ketonových skupin do pozic C(6) a C(7) prostřednictvím oxidační reakce. Jako oxidační činidla lze použít:  $\text{CrO}_3$  a fenylseleninyl benzenseleninát.

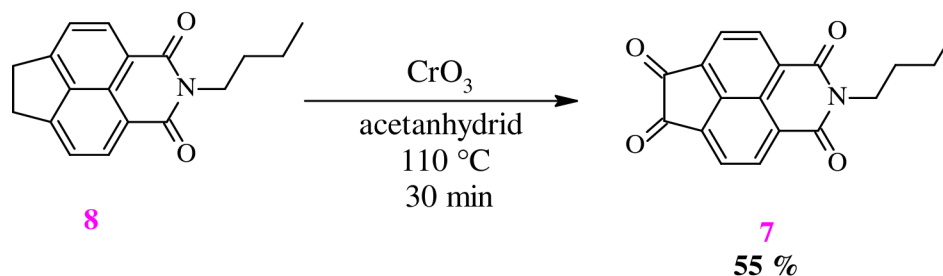
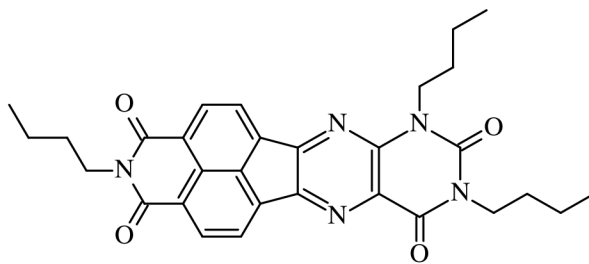


Schéma 20 Syntéza látky 7

Oxidace látky 8 probíhá pomocí oxidu chromového jako oxidačního činidla, který byl zvolen pro svou dostupnost, cenu a stabilitu [70]. Látka 8 (1 ekv.) byla rozpuštěna v acetanhydridu, poté se přidal oxid chromový (5 ekv.). Reakční směs byla zahřívána za současného míchání při 110 °C po dobu 30 minut, směs byla ochlazena a smíchána s kyselinou chlorovodíkovou pro odstranění anorganických solí. Po zpracování byl izolovaný pevný podíl přečištěn sloupcovou chromatografií (silikagel, dichlormethan). Produkt, finální 1,2-diketon, byl izolován s výtěžkem 55 % ve formě žluté pevné látky. Potvrzení struktury produktu 7 proběhla pomocí  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopie. Oxid chromový je karcinogenní, veškerá manipulace s ním probíhala v digestoři za zvýšené opatrnosti.

### 4.1.3 Příprava flavinového prekurozu

Požadovaný flavinový prekurzor nebyl z časových důvodů syntetizován, avšak syntéza je plánována pro další práci.



1

Obrázek 12 Struktura cílového flavinu

## 5 ZÁVĚR

Předložená bakalářská práce pojednává o zavedení nových fotosensitizerů, které by mohly být použity pro aplikaci ve fotodynamické terapii zejména pro léčbu rakoviny kůže, přičemž všechny zadané cíle práce byly splněny.

První část poskytuje historický pohled na využití světla v léčbě různých nemocí a sleduje vývoj trendu fotodynamické terapie napříč 20. a 21. stoletím. Teoretická část se dále zabývá popisem mechanismu, možnostmi klinických aplikací a limitacemi této alternativní léčby. Nejdůležitějšími komponenty fotodynamické terapie jsou světlo, kyslík a fotosensitizer. Fotosensitizer lze rozdělit na základě jejich vlastností na tři generace. První generace zahrnuje přírodní porfyrin, hematoporfyrin a jejich deriváty, druhá generace se řadí mezi optimalizované fotosensitizer první generace. Fotosensitizer třetí generace jsou modifikované fotosensitizer druhé generace s použitím nosičů nebo nanočástic.

Pro účely experimentální části byly zvoleny riboflavinem inspirované deriváty. Druhá část rešerše se zaměřovala na literární postupy pro přípravu klíčových prekurzorů.

V experimentální části práce jsou popsány syntézy všech připravených meziproductů pro získání finálních prekurzorů flavinového derivátu, alkylovaného 5,6-diaminouracilu a 1,2-diketonu. Byl odhalen jednoduchý, rychlý a spolehlivý způsob pro přípravu substituovaného diaminouracilu, který sestával ze čtyř kroků. Příprava diketonové části byla časově náročnější než u uracilové části a bylo třeba zacházet s acenaftenem a oxidem chromovým dle bezpečnostních pokynů kvůli jejich toxicitě. Samotná syntéza dle literatury je úspěšná, jednoduchá a čtyřkroková. V rámci bakalářské práce bylo připraveno a charakterizováno 8 meziproductů.

Bakalářská práce představuje platformu pro budoucí syntézu přírodou inspirovaných fotosensitizerů. Výzkum bude pokračovat v magisterském studiu, kde je plánováno zavádění dalších skupin podporujících samoorganizaci molekul (adamantanové řetězce) nebo rozpustnost (triethylenglykolové, oktylové řetězce). Dále je plánovaná příprava dalších uracilových derivátů se zaměřením na polární skupiny podporujících rozpustnost flavinových derivátů. Připravené flavinové deriváty budou zpracovány externě, zavedením do liposomů, a testovány in vitro.

Z důvodů limitujících faktorů může v místě s větší koncentrací nádorových buněk dojít k hypoxii ve tkáních, a tím se sníží efektivita fotodynamické terapie. Proto je do budoucna uvažováno o změně směru výzkumu aplikací fotosensitizerů z fotodynamické terapie na fototermální terapii.

## 6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] HAMBLIN, Michael R. *Imaging in Photodynamic Therapy*. 501. Dostupné z: doi:10.1201/b21922
- [2] LEE, Chaw-Ning, Rosie HSU, Hsuan CHEN a Tak-Wah WONG. Daylight Photodynamic Therapy: An Update. *Molecules* [online]. 2020, **25**(21) [cit. 2023-03-16]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25215195
- [3] ACKROYD, Roger, C. KELTY, N. BROWN a M. REED. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochemistry and photobiology*. 2001, **74**(5), 656-69. Dostupné z: doi:10.1562/0031-8655(2001)074<0656:thopap>2.0.co;2
- [4] DOLMANS, Dennis E.J.G.J., Dai FUKUMURA a Rakesh K. JAIN. Photodynamic therapy for cancer. *Nature Reviews Cancer* [online]. 2003, **3**(5), 380-387 [cit. 2023-03-16]. ISSN 1474-175X. Dostupné z: doi:10.1038/nrc1071
- [5] LI, Xingshu, Songyi LEE a Juyoung YOON. Supramolecular photosensitizers rejuvenate photodynamic therapy. *Chemical Society Reviews* [online]. 2018, **47**(4), 1174-1188 [cit. 2023-03-16]. ISSN 0306-0012. Dostupné z: doi:10.1039/C7CS00594F
- [6] ROCHA, Luís Borges. *Development of a novel photosensitizer for photodynamic therapy of cancer* [online]. 1. Coimbra, Portugal: Universidade de Coimbra, 2016 [cit. 2023-03-17]. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/10316/29825>
- [7] FITZGERALD, Flora. *Photodynamic Therapy (PDT): Principles, Mechanisms and Applications*. 1. USA: Nova Science Publishers, Inc., 2017. ISBN 978-1-53611-912-1.
- [8] MITTON, D. a R. ACKROYD. A brief overview of photodynamic therapy in Europe. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* [online]. 2008, **5**(2), 103-111 [cit. 2023-03-16]. ISSN 15721000. Dostupné z: doi:10.1016/j.pdpdt.2008.04.004
- [9] RAGHAVENDRA, M, A KOREGOL a S BHOLA. Photodynamic therapy: a targeted therapy in periodontics. *Australian Dental Journal* [online]. 2009, **54**, 102-109 [cit. 2023-04-10]. ISSN 00450421. Dostupné z: doi:10.1111/j.1834-7819.2009.01148.x
- [10] PLAETZER, Kristjan, Mark BERNEBURG, Tobias KIESSLICH a Tim MAISCH. New Applications of Photodynamic Therapy in Biomedicine and Biotechnology. *BioMed Research International* [online]. 2013, **2013**, 1-3 [cit. 2023-03-17]. ISSN 2314-6133. Dostupné z: doi:10.1155/2013/161362
- [11] YOO, Su Woong, Gyungseok OH, Jin Chul AHN a Euiheon CHUNG. Non-Oncologic Applications of Nanomedicine-Based Phototherapy. *Biomedicines* [online]. 2021, **9**(2) [cit. 2023-03-17]. ISSN 2227-9059. Dostupné z: doi:10.3390/biomedicines9020113
- [12] CALZAVARA-PINTON, Pier Giacomo, Maria Teresa ROSSI, Erica ARONSON a Raffaella SALA. A retrospective analysis of real-life practice of off-label photodynamic therapy using methyl aminolevulinate (MAL-PDT) in 20 Italian dermatology departments. Part 1: Inflammatory and aesthetic indications. *Photochemical & Photobiological Sciences* [online]. 2012, **12**(1), 148-157 [cit. 2023-03-17]. ISSN 1474-905X. Dostupné z: doi:10.1039/c2pp25124h

- [13] STENDER, Ida-Marie, Renhua NA, Hanne FOGH, Christian GLUUD a Hans Christian WULF. Photodynamic therapy with 5-aminolaevulinic acid or placebo for recalcitrant foot and hand warts: randomised double-blind trial. *The Lancet* [online]. 2000, **355**(9208), 963-966 [cit. 2023-03-17]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(00)90013-8
- [14] SHIN, Hyun Tae, Jun Hwan KIM, Joonho SHIM, Jong Hee LEE, Dong Youn LEE, Joo Heung LEE a Jun Mo YANG. Photodynamic therapy using a new formulation of 5-aminolevulinic acid for wrinkles in Asian skin: A randomized controlled split face study. *Journal of Dermatological Treatment* [online]. 2015, **26**(3), 246-251 [cit. 2023-03-17]. ISSN 0954-6634. Dostupné z: doi:10.3109/09546634.2014.933163
- [15] CHOI, Young M., Lily ADELZADEH a Jashin J. WU. Photodynamic therapy for psoriasis. *Journal of Dermatological Treatment* [online]. 2015, **26**(3), 202-207 [cit. 2023-03-17]. ISSN 0954-6634. Dostupné z: doi:10.3109/09546634.2014.927816
- [16] JERJES, Waseem, Tahwinder UPILE, Zaid HAMDOON, Charles Alexander MOSSE, Sarah AKRAM, Simon MORLEY a Colin HOPPER. Interstitial PDT for vascular anomalies. *Lasers in Surgery and Medicine* [online]. 2011, **43**(5), 357-365 [cit. 2023-03-17]. ISSN 01968092. Dostupné z: doi:10.1002/lsm.21058
- [17] COMACCHI, Claudio, Pier Luca BENCINI, Michela Gianna GALIMBERTI, Pietro CAPPUGI a Daniele TORCHIA. Topical Photodynamic Therapy for Idiopathic Hirsutism and Hypertrichosis. *Plastic and Reconstructive Surgery* [online]. 2012, **129**(6), 1012-1014 [cit. 2023-03-17]. ISSN 0032-1052. Dostupné z: doi:10.1097/PRS.0b013e31824f00cc
- [18] BRUSCINO, Nicola, Torello LOTTI a Riccardo ROSSI. Photodynamic therapy for a hypertrophic scarring: a promising choice. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine* [online]. 2011, **27**(6), 334-335 [cit. 2023-03-17]. ISSN 09054383. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0781.2011.00619.x
- [19] DÍAZ-DÁVALOS, César David, Arturo CARASSCO-QUIROZ a Dirce RIVERA-DÍEZ. Neovascularization corneal regression in patients treated with photodynamic therapy with verteporfin. *Revista medica del Instituto Mexicano del Seguro Social* [online]. 2016, **54**(2), 164-169 [cit. 2023-03-18]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26960043/>
- [20] HOUTHOOFD, S., M. VUYLSTEKE, S. MORDON a I. FOURNEAU. Photodynamic therapy for atherosclerosis. The potential of indocyanine green. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* [online]. 2020, **29** [cit. 2023-03-18]. ISSN 15721000. Dostupné z: doi:10.1016/j.pdpdt.2019.10.003
- [21] COSGAREA, Raluca, Robert POLLMANN, Jusra SHARIF et al. Photodynamic therapy in oral lichen planus: A prospective case-controlled pilot study. *Scientific Reports* [online]. 2020, **10**(1) [cit. 2023-03-18]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-020-58548-9
- [22] LEE, Byung Il, Yoon Seok SUH, You Jung CHUNG, Kweon YU a Chan Beum PARK. Shedding Light on Alzheimer's  $\beta$ -Amyloidosis: Photosensitized Methylene Blue Inhibits Self-Assembly of  $\beta$ -Amyloid Peptides and Disintegrates Their Aggregates. *Scientific Reports* [online]. 2017, **7**(1) [cit. 2023-03-18]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-017-07581-2
- [23] GALLARDO-VILLAGRÁN, Manuel, David Yannick LEGER, Bertrand LIAGRE a Bruno THERRIEN. Photosensitizers Used in the Photodynamic Therapy of Rheumatoid Arthritis.

*International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, **20**(13) [cit. 2023-03-18]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20133339

- [24] FAVRE, L., F. BORLE, D. VELIN et al. Low dose endoluminal photodynamic therapy improves murine T cell-mediated colitis. *Endoscopy* [online]. 2011, **43**(07), 604-616 [cit. 2023-03-18]. ISSN 0013-726X. Dostupné z: doi:10.1055/s-0030-1256382
- [25] WEBER, Michael, Yasaman Zandi MEHRAN, Armin ORTHABER, Hadi Hosseini SAADAT, Robert WEBER a Matthias WOJCIK. Antivirale Photodynamische Therapie bei Covid-19: Ein neuer Ansatz zur Behandlung in frühen Krankheitsstadien. *Akupunktur & Aurikulomedizin* [online]. 2021, **47**(1), 29-34 [cit. 2023-03-16]. ISSN 2192-9319. Dostupné z: doi:10.1007/s15009-021-5701-x
- [26] MORTON, C.A., R.-M. SZEIMIES, N. BASSET-SEGUEIN et al. European Dermatology Forum guidelines on topical photodynamic therapy 2019 Part 1: treatment delivery and established indications – actinic keratoses, Bowen's disease and basal cell carcinomas. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* [online]. 2019, **33**(12), 2225-2238 [cit. 2023-04-23]. ISSN 0926-9959. Dostupné z: doi:10.1111/jdv.16017
- [27] MORTON, C.A., R.-M. SZEIMIES, N. BASSET-SÉGUIN et al. European Dermatology Forum guidelines on topical photodynamic therapy 2019 Part 2: emerging indications – field cancerization, photorejuvenation and inflammatory/infective dermatoses. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* [online]. 2019, **34**(1), 17-29 [cit. 2023-04-01]. ISSN 0926-9959. Dostupné z: doi:10.1111/jdv.16044
- [28] CALIXTO, Giovana, Jéssica BERNEGOSSI, Laura DE FREITAS, Carla FONTANA a Marlus CHORILLI. Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems for Photodynamic Therapy of Cancer: A Review. *Molecules* [online]. 2016, **21**(3) [cit. 2023-03-17]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules21030342
- [29] DOS SANTOS, Ancely Ferreira, Daria Raquel Queiroz DE ALMEIDA, Leticia Ferreira TERRA, Mauricio S. BAPTISTA a Leticia LABRIOLA. Photodynamic therapy in cancer treatment - an update review. *Journal of Cancer Metastasis and Treatment* [online]. 2019, **2019** [cit. 2023-03-18]. ISSN 2454-2857. Dostupné z: doi:10.20517/2394-4722.2018.83
- [30] LANGE, Natalia, Wojciech SZLASA, Jolanta SACZKO a Agnieszka CHWILKOWSKA. Potential of Cyanine Derived Dyes in Photodynamic Therapy. *Pharmaceutics* [online]. 2021, **13**(6) [cit. 2023-03-18]. ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics13060818
- [31] VO-DINH, Tuan, ed. *Biomedical Photonics Handbook* [online]. CRC Press, 2003 [cit. 2023-04-29]. ISBN 9780429214295. Dostupné z: doi:10.1201/9780203008997
- [32] KIM, Michele M. a Arash DARAFSHEH. Light Sources and Dosimetry Techniques for Photodynamic Therapy. *Photochemistry and Photobiology* [online]. 2020, **96**(2), 280-294 [cit. 2023-04-02]. ISSN 0031-8655. Dostupné z: doi:10.1111/php.13219
- [33] SALEH, Bahaa E. A. a Malvin Carl TEICH. *Fundamentals of photonics*. 2nd ed. Hoboken: Wiley-Interscience, 2007. ISBN 9780471358329.
- [34] CHEN, James, Llew KELTNER, Julene CHRISTOPHERSEN, Frank ZHENG, Michael KROUSE, Anil SINGHAL a Sy-shi WANG. New Technology for Deep Light Distribution in

- Tissue for Phototherapy. *The Cancer Journal* [online]. 2002, **8**(2), 154-163 [cit. 2023-04-29]. ISSN 1528-9117. Dostupné z: doi:10.1097/00130404-200203000-00009
- [35] HEMPSTEAD, Joshua, Dustin P. JONES, Abdelali ZIOUCHE, Gwendolyn M. CRAMER, Imran RIZVI, Stephen ARNASON, Tayyaba HASAN a Jonathan P. CELLI. Low-cost photodynamic therapy devices for global health settings: Characterization of battery-powered LED performance and smartphone imaging in 3D tumor models. *Scientific Reports* [online]. 2015, **5**(1) [cit. 2023-04-29]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep10093
- [36] DIAMOND, Ivan, Antony F. MCDONAGH, Charles B. WILSON, Steven G. GRANELLI, Surl NIELSEN a Richard JAENICKE. PHOTODYNAMIC THERAPY OF MALIGNANT TUMOURS. *The Lancet* [online]. 1972, **300**(7788), 1175-1177 [cit. 2023-04-29]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(72)92596-2
- [37] WILSON, B C a M S PATTERSON. The physics of photodynamic therapy. *Physics in Medicine and Biology* [online]. 1986, **31**(4), 327-360 [cit. 2023-04-29]. ISSN 0031-9155. Dostupné z: doi:10.1088/0031-9155/31/4/001
- [38] MORTON, C.A., K.E. MCKENNA a L.E. RHODES. Guidelines for topical photodynamic therapy: update. *British Journal of Dermatology* [online]. 2008, **159**(6), 1245-1266 [cit. 2023-04-29]. ISSN 00070963. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2133.2008.08882.x
- [39] MAHARJAN, Prabal Singh, Hitesh Kumar BHATTARAI a Zhen-Jian ZHUO. Singlet Oxygen, Photodynamic Therapy, and Mechanisms of Cancer Cell Death. *Journal of Oncology* [online]. 2022, **2022**, 1-20 [cit. 2023-04-29]. ISSN 1687-8469. Dostupné z: doi:10.1155/2022/7211485
- [40] SHARMAN, Wesley M., Cynthia M. ALLEN a Johan E. VAN LIER. Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications. *Drug Discovery Today* [online]. 1999, **4**(11), 507-517 [cit. 2023-03-31]. ISSN 13596446. Dostupné z: doi:10.1016/S1359-6446(99)01412-9
- [41] GUNAYDIN, Gurcan, M. Emre GEDIK a Seylan AYAN. Photodynamic Therapy for the Treatment and Diagnosis of Cancer—A Review of the Current Clinical Status. *Frontiers in Chemistry* [online]. 2021, **9** [cit. 2023-04-29]. ISSN 2296-2646. Dostupné z: doi:10.3389/fchem.2021.686303
- [42] DAVE, Deepak, Urmi DESAI, Neeraj DESPANDE a NS YADAV. Photodynamic Therapy: A View through Light. *Journal of Orofacial Research* [online]. 2012, **2**, 82-86 [cit. 2023-04-29]. ISSN 22777482. Dostupné z: doi:10.5005/jp-journals-10026-1019
- [43] DE FREITAS, Lucas F. a Michael R. HAMBLIN. Antimicrobial photoinactivation with functionalized fullerenes. In: *Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy* [online]. Elsevier, 2016, s. 1-27 [cit. 2023-04-29]. ISBN 9780323428644. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-42864-4.00001-4
- [44] BASKARAN, Rengarajan, Junghan LEE a Su-Geun YANG. Clinical development of photodynamic agents and therapeutic applications. *Biomaterials Research* [online]. 2018, **22**(1) [cit. 2023-04-29]. ISSN 2055-7124. Dostupné z: doi:10.1186/s40824-018-0140-z
- [45] PETERSON, C. Matthew, Robert REED, Christopher J. JOLLES, Kirtly Parker JONES, Richard C. STRAIGHT a A. Marsh POULSON. Photodynamic therapy of human ovarian epithelial carcinoma, OVCAR-3, heterotransplanted in the nude mouse. *American Journal of Obstetrics and*

- Gynecology* [online]. 1992, **167**(6), 1852-1855 [cit. 2023-04-29]. ISSN 00029378. Dostupné z: doi:10.1016/0002-9378(92)91786-A
- [46] SCHMIDT-ERFURTH, U., Joan MILLER, Michel SICKENBERG et al. Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization: clinical and angiographic examples. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* [online]. 1998, **236**(5), 365-374 [cit. 2023-04-29]. ISSN 0721-832X. Dostupné z: doi:10.1007/s004170050092
- [47] SPIKES, John D. New trends in photobiology. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [online]. 1990, **6**(3), 259-274 [cit. 2023-04-29]. ISSN 10111344. Dostupné z: doi:10.1016/1011-1344(90)85096-F
- [48] WÖHRLE, D., A. HIRTH, T. BOGDAHNR-RAI, G. SCHNURPFEIL a M. SHOPOVA. Photodynamic therapy of cancer: Second and third generations of photosensitizers. *Russian Chemical Bulletin* [online]. 1998, **47**(5), 807-816 [cit. 2023-04-29]. ISSN 1066-5285. Dostupné z: doi:10.1007/BF02498146
- [49] GOMER, Charles J. PRECLINICAL EXAMINATION OF FIRST and SECOND GENERATION PHOTSENSITIZERS USED IN PHOTODYNAMIC THERAPY. *Photochemistry and Photobiology* [online]. 1991, **54**(6), 1093-1107 [cit. 2023-04-29]. ISSN 0031-8655. Dostupné z: doi:10.1111/j.1751-1097.1991.tb02133.x
- [50] MALACARNE, Miryam Chiara, Marzia Bruna GARIBOLDI a Enrico CARUSO. BODIPYs in PDT: A Journey through the Most Interesting Molecules Produced in the Last 10 Years. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2022, **23**(17) [cit. 2023-04-29]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms231710198
- [51] NISHIYAMA, Nobuhiro, Yuji MORIMOTO, Woo-Dong JANG a Kazunori KATAOKA. Design and development of dendrimer photosensitizer-incorporated polymeric micelles for enhanced photodynamic therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2009, **61**(4), 327-338 [cit. 2023-04-29]. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2009.01.004
- [52] KONOPKA, K. a T. GOSLINSKI. Photodynamic Therapy in Dentistry. *Journal of Dental Research* [online]. 2007, **86**(8), 694-707 [cit. 2023-04-29]. ISSN 0022-0345. Dostupné z: doi:10.1177/154405910708600803
- [53] HUDSON, R, M CARCENAC, K SMITH, L MADDEN, O J CLARKE, A PèLEGRIN, J GREENMAN a R W BOYLE. The development and characterisation of porphyrin isothiocyanate–monoclonal antibody conjugates for photoimmunotherapy. *British Journal of Cancer* [online]. 2005, **92**(8), 1442-1449 [cit. 2023-04-29]. ISSN 0007-0920. Dostupné z: doi:10.1038/sj.bjc.6602517
- [54] STANELOUDI, Chrysovalanto, Karen A. SMITH, Robert HUDSON, Nela MALATESTI, Huguette SAVOIE, Ross W. BOYLE a John GREENMAN. Development and characterization of novel photosensitizer : scFv conjugates for use in photodynamic therapy of cancer. *Immunology* [online]. 2007, **120**(4), 512-517 [cit. 2023-04-29]. ISSN 00192805. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2567.2006.02522.x
- [55] CHILAKAMARTHI, Ushasri a Lingamallu GIRIBABU. Photodynamic Therapy: Past, Present and Future. *The Chemical Record* [online]. 2017, **17**(8), 775-802 [cit. 2023-04-29]. ISSN 15278999. Dostupné z: doi:10.1002/tcr.201600121

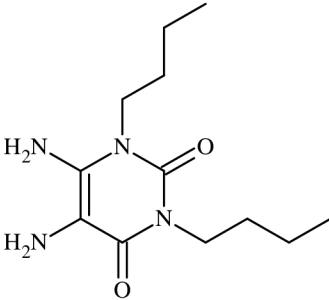
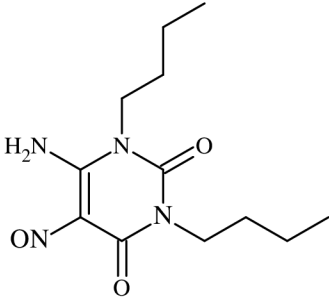
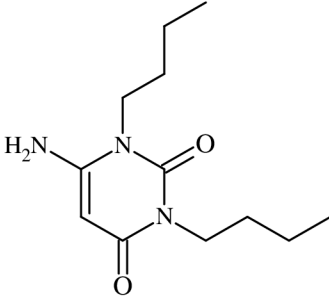
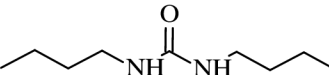
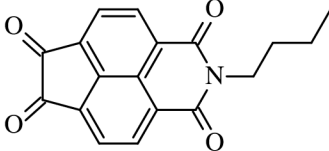


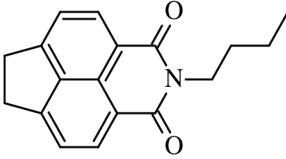
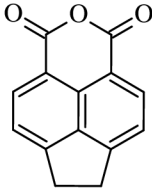
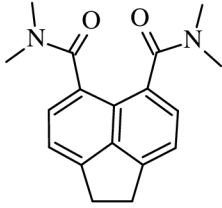
- [56] KWIATKOWSKI, Stanislaw, Bartosz KNAP, Dawid PRZYSTUPSKI et al. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [online]. 2018, **106**, 1098-1107 [cit. 2023-04-29]. ISSN 07533322. Dostupné z: doi:10.1016/j.biopha.2018.07.049
- [57] ABRAHAMSE, Heidi a Michael R. HAMBLIN. New photosensitizers for photodynamic therapy. *Biochemical Journal* [online]. 2016, **473**(4), 347-364 [cit. 2023-04-29]. ISSN 0264-6021. Dostupné z: doi:10.1042/BJ20150942
- [58] GADDA, Giovanni. Flavins: Photochemistry and Photobiology. Comprehensive Series in Photochemical and Photobiological Sciences Edited by Eduardo Silva and Ana M. Edwards (P. Universidad Catolica de Chile, Santiago). Royal Society of Chemistry. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 2007, **129**(28), 8926-8926 [cit. 2023-04-29]. ISSN 0002-7863. Dostupné z: doi:10.1021/ja069844u
- [59] RICHTAR, Jan, Patricie HEINRICHOVA, Dogukan APAYDIN et al. Novel Riboflavin-Inspired Conjugated Bio-Organic Semiconductors. *Molecules* [online]. 2018, **23**(9) [cit. 2023-04-09]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules23092271
- [60] KAIM, Wolfgang, Brigitte SCHWEDERSKI, Oliver HEILMANN a Fridmann M. HORNING. Coordination compounds of pteridine, alloxazine and flavin ligands: structures and properties. *Coordination Chemistry Reviews* [online]. 1999, **182**(1), 323-342 [cit. 2023-04-29]. ISSN 00108545. Dostupné z: doi:10.1016/S0010-8545(98)00193-3
- [61] ZHOU, Yimin, Ying-Kit CHEUNG, Chao MA et al. Endoplasmic Reticulum-Localized Two-Photon-Absorbing Boron Dipyrromethenes as Advanced Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2018, **61**(9), 3952-3961 [cit. 2023-03-23]. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jmedchem.7b01907
- [62] POWERS, Hilary J. Riboflavin (vitamin B-2) and health. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. 2003, **77**(6), 1352-1360 [cit. 2023-03-23]. ISSN 00029165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/77.6.1352
- [63] CARDOSO, Daniel R., Silvia H. LIBARDI a Leif H. SKIBSTED. Riboflavin as a photosensitizer. Effects on human health and food quality. *Food & Function* [online]. 2012, **3**(5) [cit. 2023-03-23]. ISSN 2042-6496. Dostupné z: doi:10.1039/c2fo10246c
- [64] INSIŃSKA-RAK, Malgorzata a Marek SIKORSKI. Riboflavin Interactions with Oxygen-A Survey from the Photochemical Perspective. *Chemistry - A European Journal* [online]. 2014, **20**(47), 15280-15291 [cit. 2023-04-29]. ISSN 09476539. Dostupné z: doi:10.1002/chem.201403895
- [65] MARSCHNER, Susanne a Raymond GOODRICH. Pathogen Reduction Technology Treatment of Platelets, Plasma and Whole Blood Using Riboflavin and UV Light. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* [online]. 2011, **38**(1), 8-18 [cit. 2023-04-29]. ISSN 1660-3818. Dostupné z: doi:10.1159/000324160
- [66] GIOVANNITTI, Alexander, Iuliana P. MARIA, David HANIFI et al. The Role of the Side Chain on the Performance of N-type Conjugated Polymers in Aqueous Electrolytes. *Chemistry of Materials* [online]. 2018, **30**(9), 2945-2953 [cit. 2023-04-09]. ISSN 0897-4756. Dostupné z: doi:10.1021/acs.chemmater.8b00321

- [67] PADIYA, Kamlesh J., Sandip GAVADE, Bhavana KARDILE et al. Unprecedented “In Water” Imidazole Carbonylation: Paradigm Shift for Preparation of Urea and Carbamate. *Organic Letters* [online]. 2012, **14**(11), 2814-2817 [cit. 2023-04-11]. ISSN 1523-7060. Dostupné z: doi:10.1021/ol301009d
- [68] KIM, Hea Ok, Xiao-duo JI, Neli MELMAN, Mark E. OLAH, Gary L. STILES a Kenneth A. JACOBSON. Selective Ligands for Rat A3 Adenosine Receptors: Structure-Activity Relationships of 1,3-Dialkylxanthine 7-Riboside Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 1994, **37**(23), 4020-4030 [cit. 2023-04-09]. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/jm00049a021
- [69] LI, Haiyan, Felix Sunjoo KIM, Guoqiang REN, Emily C. HOLLENBECK, Selvam SUBRAMANIYAN a Samson A. JENEKHE. Tetraazabenzodifluoranthene Diimides: Building Blocks for Solution-Processable n-Type Organic Semiconductors. *Angewandte Chemie International Edition* [online]. 2013, **52**(21), 5513-5517 [cit. 2023-04-09]. ISSN 14337851. Dostupné z: doi:10.1002/anie.201210085
- [70] KAWAJIRI, Ikumi, Masaya NAGAHARA, Hiroyuki ISHIKAWA, Yuma YAMAMOTO, Jun-ichi NISHIDA, Chitoshi KITAMURA a Takeshi KAWASE.  $\pi$ -Extended fluoranthene imide derivatives: synthesis, structures, and electronic and optical properties. *Canadian Journal of Chemistry* [online]. 2017, **95**(4), 371-380 [cit. 2023-04-09]. ISSN 0008-4042. Dostupné z: doi:10.1139/cjc-2016-0488
- [71] BOTHWELL, John H. F. a Julian L. GRIFFIN. An introduction to biological nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biological Reviews* [online]. 2011, **86**(2), 493-510 [cit. 2023-04-10]. ISSN 14647931. Dostupné z: doi:10.1111/j.1469-185X.2010.00157.x
- [72] MARSH, K. N., ed. *Enthalpies of Fusion and Transition of Organic Compounds* [online]. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 1995 [cit. 2023-04-11]. Landolt-Börnstein - Group IV Physical Chemistry. ISBN 3-540-58854-X. Dostupné z: doi:10.1007/b55145
- [73] SPEER, John H. a Albert L RAYMOND. Some Alkyl Homologs of Theophylline. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1953, **75**(1), 114-115 [cit. 2023-05-09]. ISSN 0002-7863. Dostupné z: doi:10.1021/ja01097a032
- [74] FIALA, Tomas, Kristina SLEZIAKOVA, Kamil MARSALEK, Karolina SALVADORI a Vladimir SINDELAR. Thermodynamics of Halide Binding to a Neutral Bambusuril in Water and Organic Solvents. *The Journal of Organic Chemistry* [online]. 2018, **83**(4), 1903-1912 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0022-3263. Dostupné z: doi:10.1021/acs.joc.7b02846
- [75] ELZEIN, Elfatih, Rao V. KALLA, Xiaofen LI et al. Discovery of a Novel A 2B Adenosine Receptor Antagonist as a Clinical Candidate for Chronic Inflammatory Airway Diseases. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2008, **51**(7), 2267-2278 [cit. 2023-04-15]. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/jm7014815
- [76] ZHOU, Pengxin, Lanlan DENG, Zengtao HAN, Xiaolong ZHAO, Zhe ZHANG a Shuhui HUO. Benzo[de]isoquinoline-1,3-dione condensed asymmetric azaacenes as strong acceptors. *RSC Advances* [online]. 2022, **12**(21), 13480-13486 [cit. 2023-04-22]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/D2RA01074G

- [77] MCCULLAGH, James V. a Kelly A. DAGGETT. Synthesis of Triarylmethane and Xanthene Dyes Using Electrophilic Aromatic Substitution Reactions. *Journal of Chemical Education* [online]. 2007, **84**(11) [cit. 2023-04-22]. ISSN 0021-9584. Dostupné z: doi:10.1021/ed084p1799
- [78] VAN DIJK, Elon H.C., Sascha FAUSER, Myrte B. BREUKINK et al. Half-Dose Photodynamic Therapy versus High-Density Subthreshold Micropulse Laser Treatment in Patients with Chronic Central Serous Chorioretinopathy. *Ophthalmology* [online]. 2018, **125**(10), 1547-1555 [cit. 2023-03-18]. ISSN 01616420. Dostupné z: doi:10.1016/j.ophtha.2018.04.021

## 7 SEZNAM PŘIPRAVENÝCH MOLEKUL

Název, vlastnosti	Struktura
<p><b>Molekula 2</b> 5,6-diamino-1,3-dibutyluracil</p> <p><b>Molekulový vzorec:</b> C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> <b>Molekulová hmotnost:</b> 290,79 g·mol<sup>-1</sup></p>	 <p>The structure shows a pyrimidine ring with two amino groups at positions 5 and 6, and two butyl groups attached to the nitrogen atoms at positions 1 and 3. The ring has two carbonyl groups at positions 2 and 4.</p>
<p><b>Molekula 3</b> 6-amino-1,3-dibutyl-5-nitrosouracil</p> <p><b>Molekulový vzorec:</b> C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> <b>Molekulová hmotnost:</b> 268,31 g·mol<sup>-1</sup></p>	 <p>The structure is similar to Molekula 2, but with a nitroso group (ON) at position 5 instead of an amino group.</p>
<p><b>Molekula 4</b> 6-amino-1,3-dibutyluracil</p> <p><b>Molekulový vzorec:</b> C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> <b>Molekulová hmotnost:</b> 239,31 g·mol<sup>-1</sup></p>	 <p>The structure is similar to Molekula 2, but with only one amino group at position 6 and a double bond between positions 5 and 6.</p>
<p><b>Molekula 5</b> <i>N,N'</i>-dibutylovaná močovina</p> <p><b>Molekulový vzorec:</b> C<sub>9</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O <b>Molekulová hmotnost:</b> 172,27 g·mol<sup>-1</sup></p>	 <p>The structure shows a central carbonyl group bonded to two nitrogen atoms, each of which is further bonded to a butyl group.</p>
<p><b>Molekula 7</b> 2-butyl-1<i>H</i>-indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3,6,7(2<i>H</i>)-tetron</p> <p><b>Molekulový vzorec:</b> C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub> <b>Molekulová hmotnost:</b> 307,30 g·mol<sup>-1</sup></p>	 <p>The structure is a complex polycyclic system consisting of an indole ring fused to a quinoline ring, with a butyl group attached to the nitrogen atom at position 2 and four carbonyl groups at positions 1, 3, 6, and 7.</p>

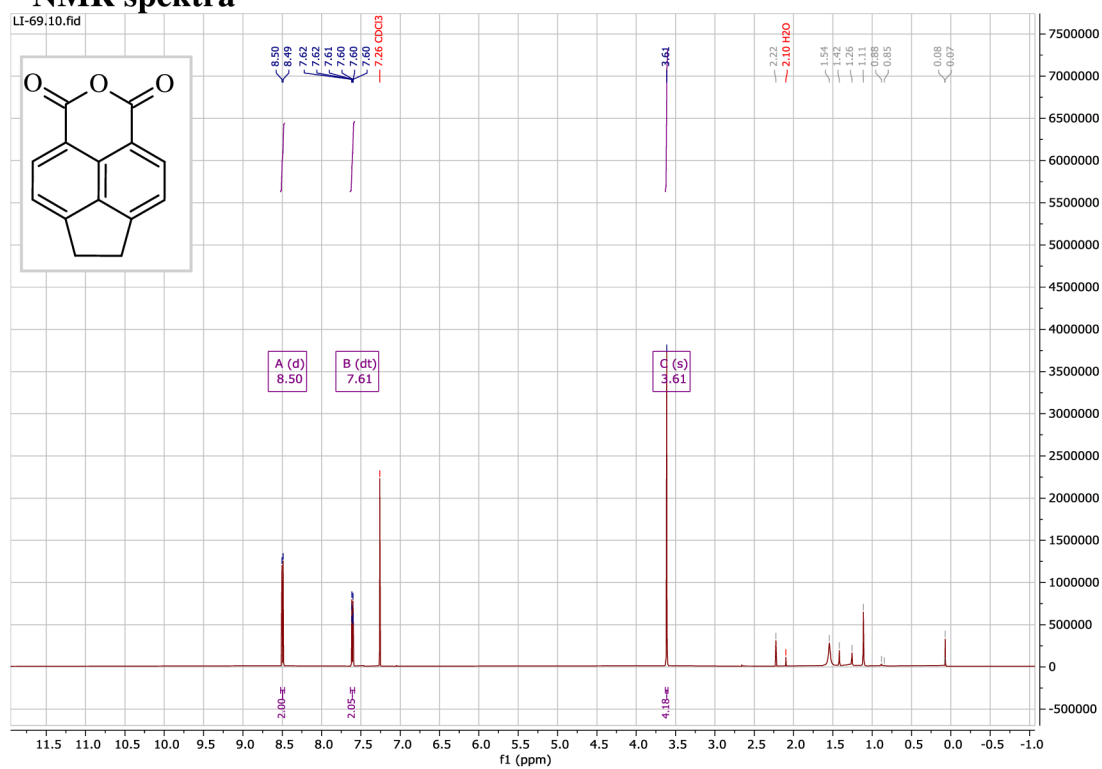
Název, vlastnosti	Struktura
<p style="text-align: center;"><b>Molekula 8</b></p> <p>2-butyl-6,7-dihydro-1<i>H</i>-indeno[6,7,1-def]isochinolin-1,3(2<i>H</i>)-dion</p> <p><b>Molekulový vzorec:</b> C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub>  <b>Molekulová hmotnosť:</b> 279,33 g·mol<sup>-1</sup></p>	
<p style="text-align: center;"><b>Molekula 9</b></p> <p>anhydrid kyseliny 5,6-acenaftendikarboxylové</p> <p><b>Molekulový vzorec:</b> C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>  <b>Molekulová hmotnosť:</b> 224,21 g·mol<sup>-1</sup></p>	
<p style="text-align: center;"><b>Molekula 10</b></p> <p><i>N</i><sup>5</sup>,<i>N</i><sup>5</sup>,<i>N</i><sup>6</sup>,<i>N</i><sup>6</sup>-tetrametyl-1,2-dihydroacenaftýlen-5,6-dikarboxamid</p> <p><b>Molekulový vzorec:</b> C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  <b>Molekulová hmotnosť:</b> 296,36 g·mol<sup>-1</sup></p>	

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

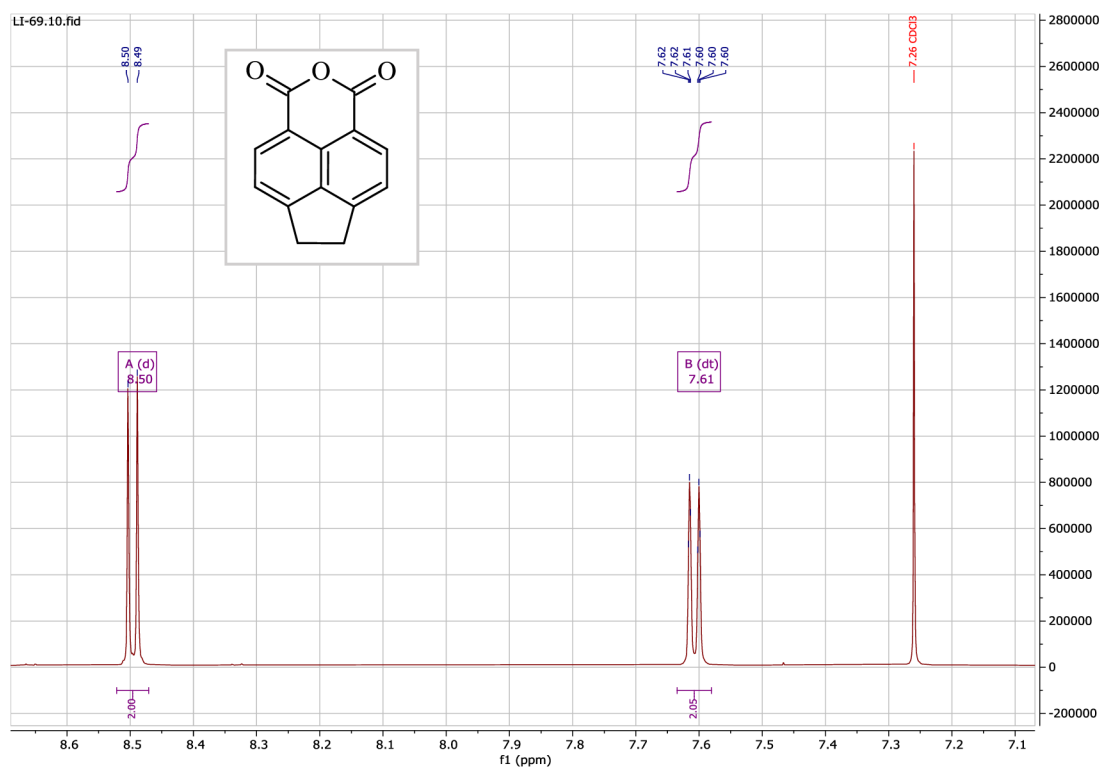
Zkratka/symbol	Význam
$^1\text{O}_2$	singletový kyslík
5-ALA	kyselina 5-aminolevulová
$\delta$	chemický posun
CDI	karbonyldiimidazol
DCM	dichlormethan
DMCC	dimethylkarbamoyl chlorid
EtOH	ethanol
FAD	flavinadenindinukleotid
FMN	flavinmononukleotid
$\text{H}_2\text{O}_2$	peroxid vodíku
$\text{HO}\cdot$	hydroxylový radikál
HpD	derivát Hematoporfyrinu
J	interakční konstanta
LED	dioda emitující světlo ( <i>z angl. light-emitting diode</i> )
MAL	methylester kyseliny 5-aminolevulové
MeOH	methanol
NMR	nukleární magnetická rezonance
$\text{O}_2^{\cdot-}$	superoxidový radikál
PDT	fotodynamická terapie
PS	fotosensitizer
RF	riboflavin
Rf	retenční faktor
ROS	reaktivní formy kyslíku
TLC	tenkovrstvá chromatografie
UV	ultrafialové záření

## 9 PŘÍLOHY

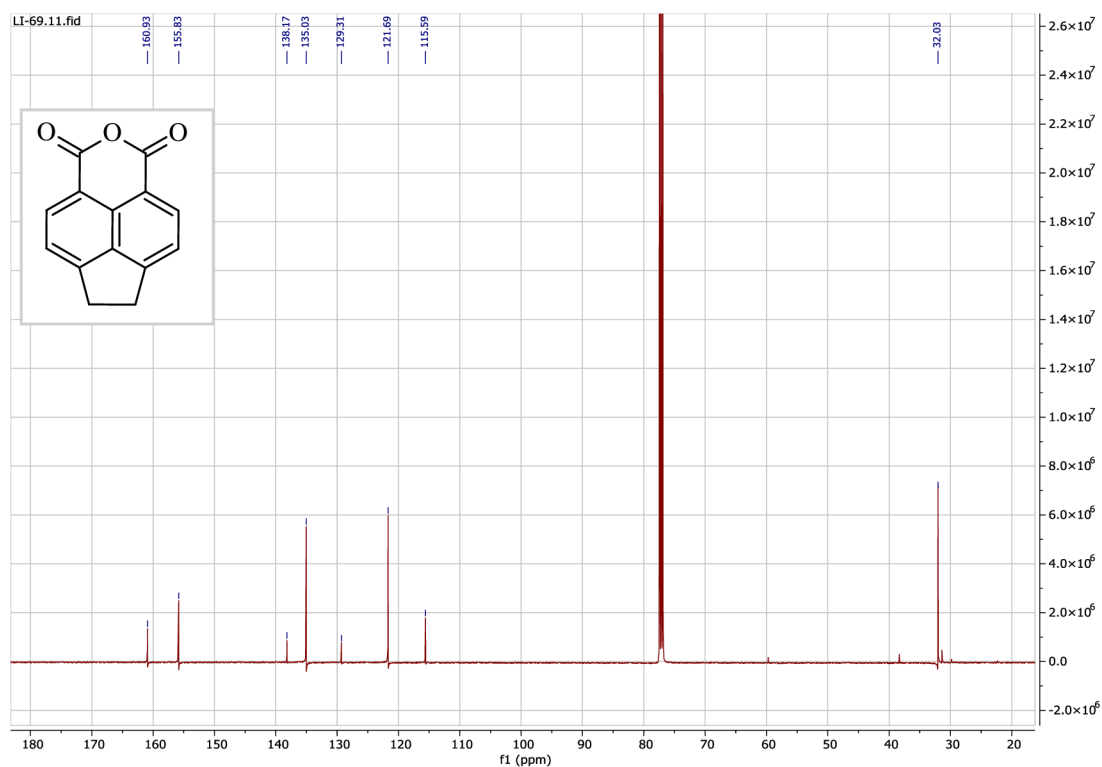
### 9.1 NMR spektra



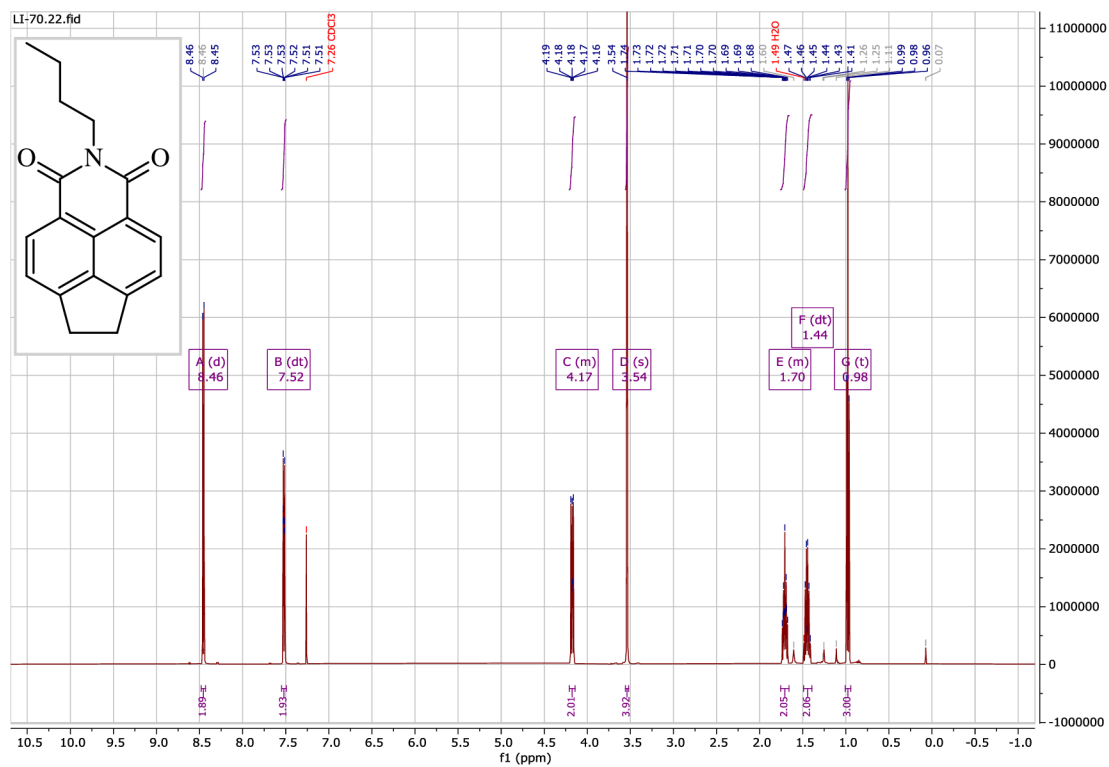
Obrázek 13 <sup>1</sup>H NMR spektrum látky 9



Obrázek 14 <sup>1</sup>H NMR spektrum látky 9, detail na aromatickou část

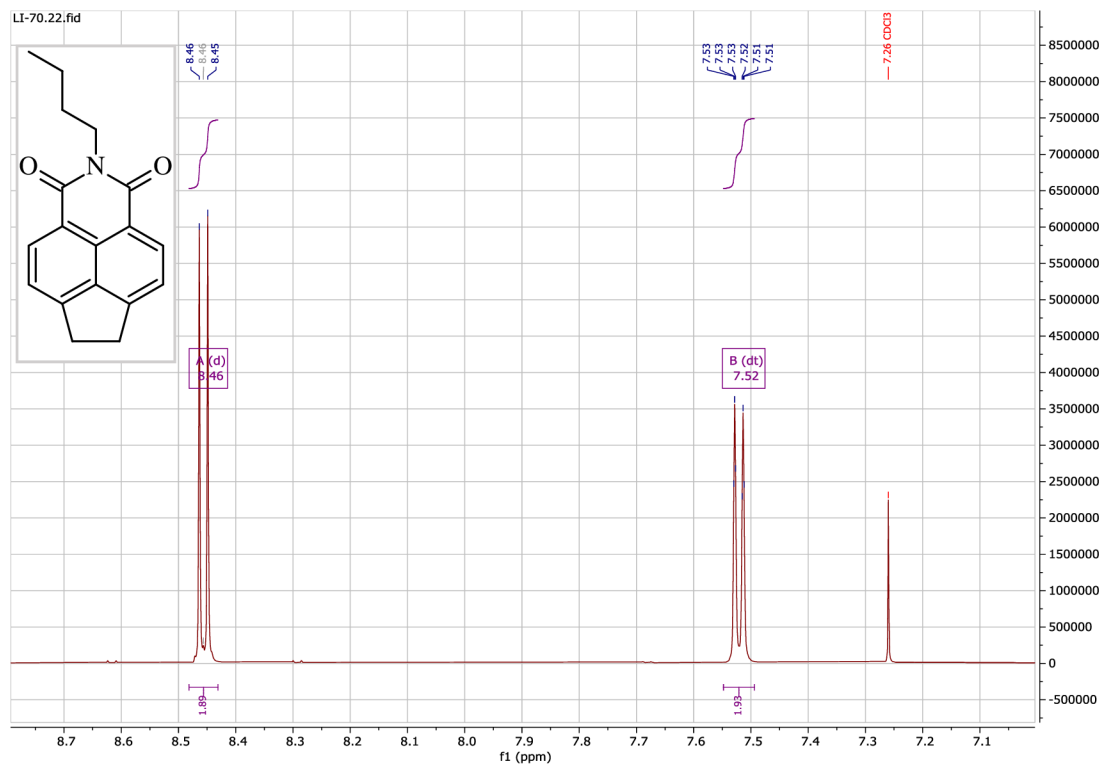


Obrázek 15  $^{13}\text{C}$  NMR spektrum látky 9

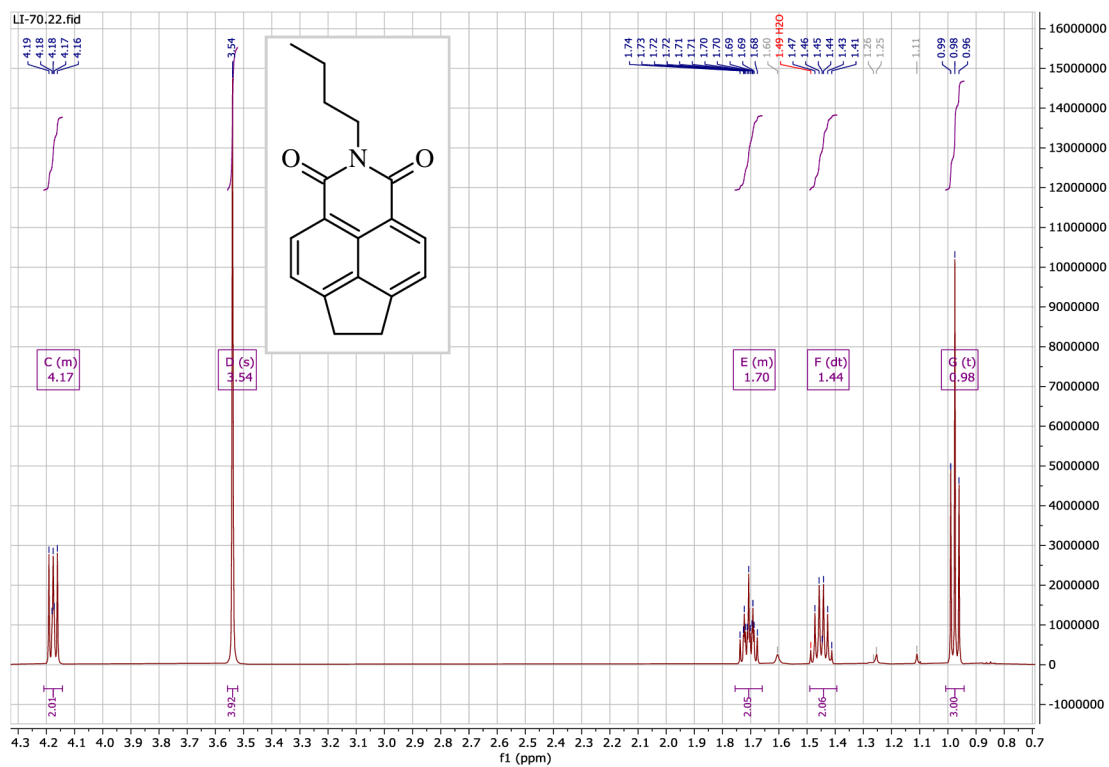


Obrázek 16  $^1\text{H}$  NMR spektrum látky 8



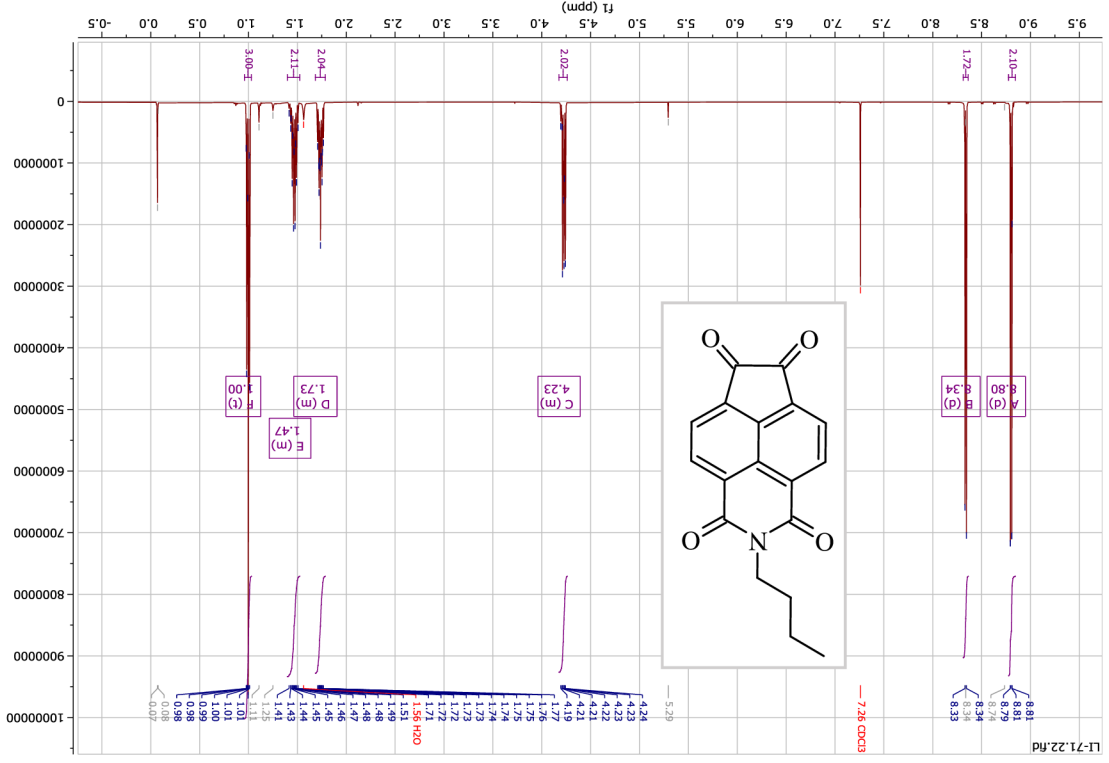


Obrázek 17  $^1\text{H}$  NMR spektrum látky 8, detail na aromatickou část

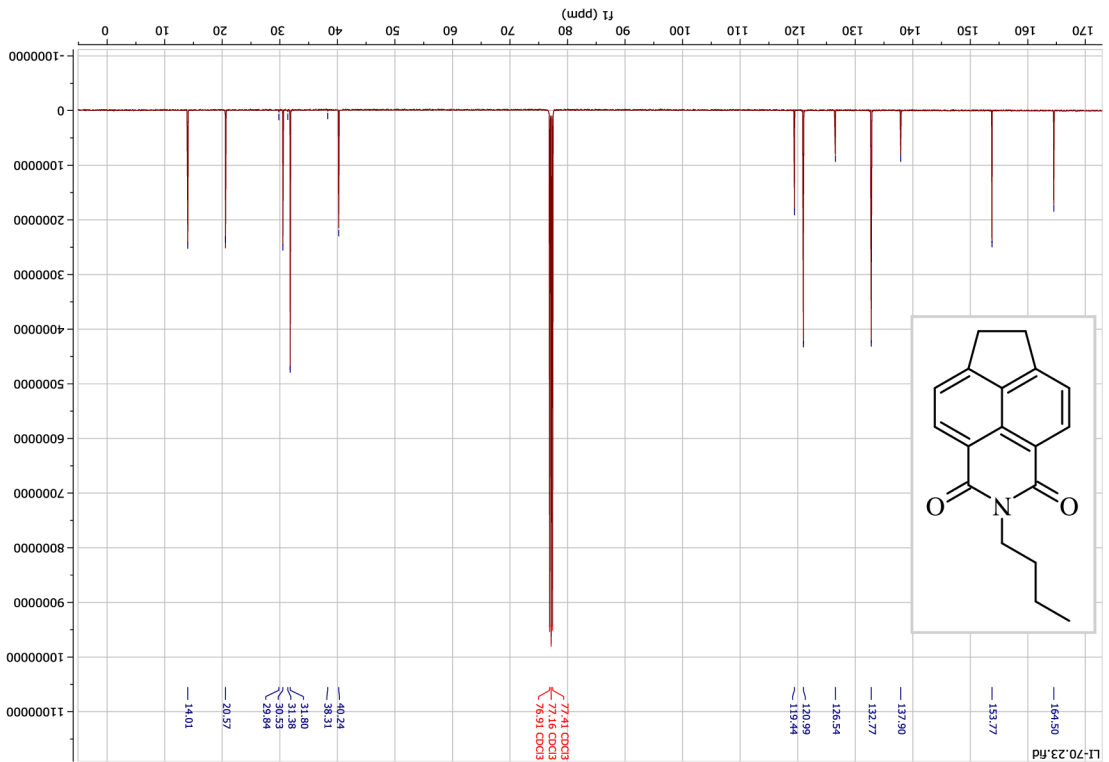


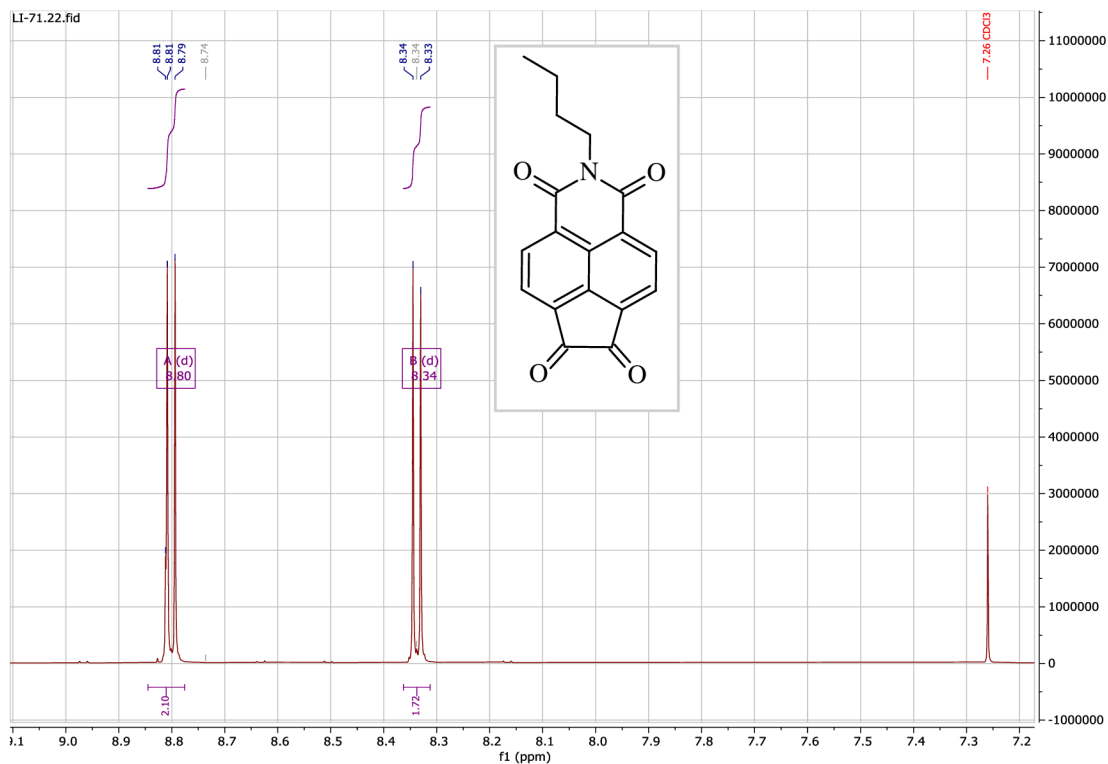
Obrázek 18  $^1\text{H}$  NMR spektrum látky 8, detail na alifatickou část

Obrázek 20 <sup>1</sup>H NMR spektrum látky 7

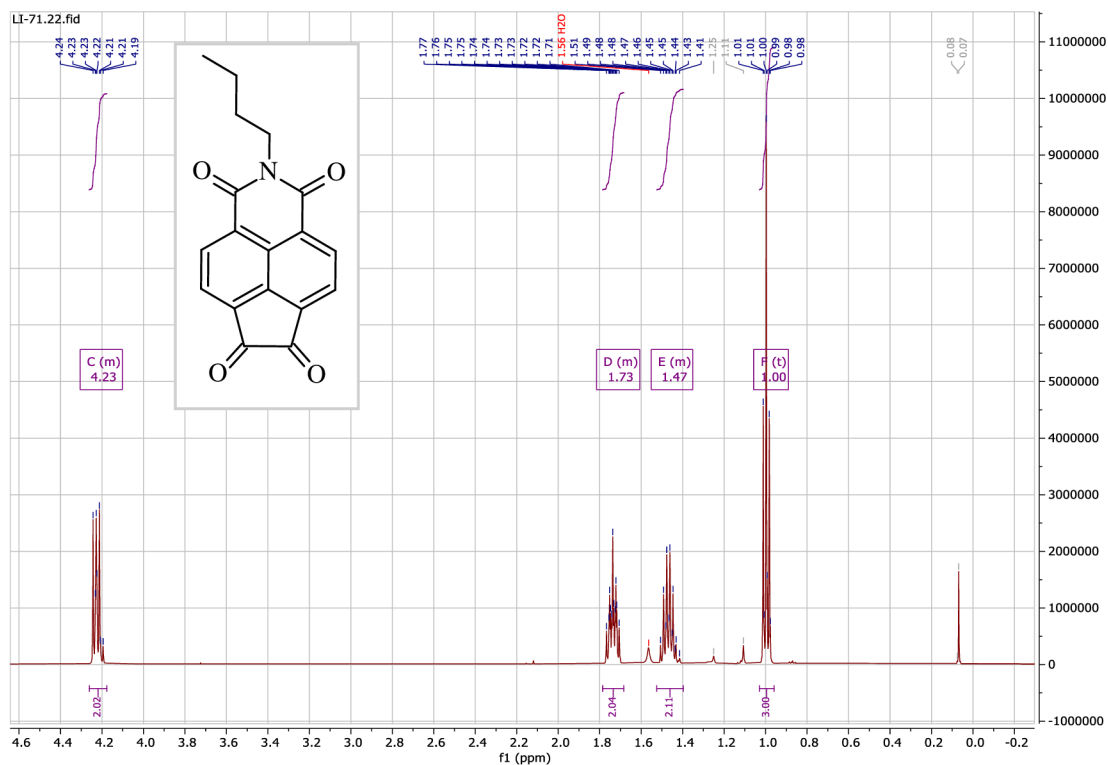


Obrázek 19 <sup>13</sup>C NMR látky 8

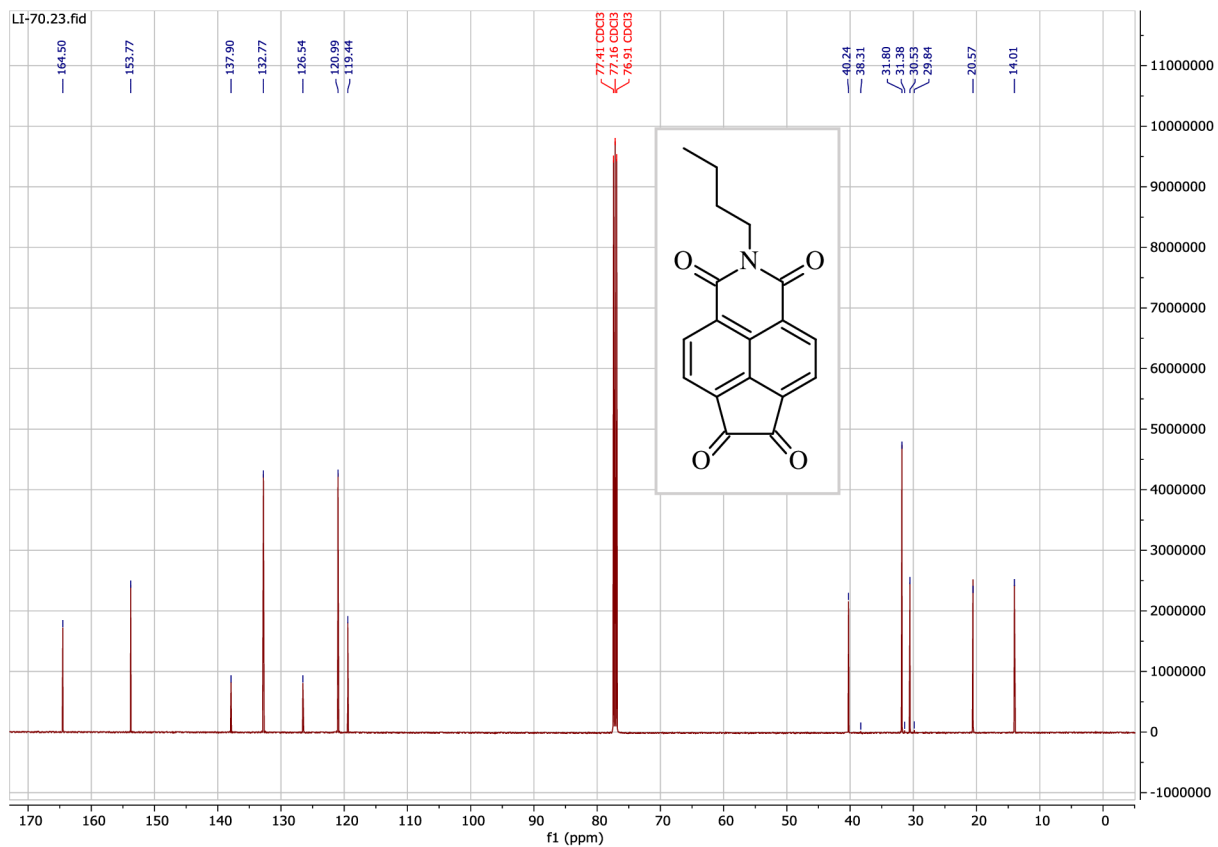




Obrázek 21 <sup>1</sup>H NMR spektrum látky 7, detail na aromatickou část



Obrázek 22 <sup>1</sup>H NMR látky 7, detail na alifatickou část



Obrázek 23 NMR spektrum látky 7