

Abstrakt

Karlova Univerzita v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické botaniky

Kandidát: **Mgr. Nina Vaněčková**

Školitel: **Doc. Ing. Lucie Cahlíková, Ph.D.**

Název práce: **Studium inhibičního (toxického) vlivu alkaloidů vybraných druhů rostlin z čeledi Amaryllidaceae na některé lidské enzymové systémy (*in vitro* studie) II.**

Klíčová slova: *Nerine bowdenii*, Amaryllidaceae, alkaloidy, biologická aktivita, acetylcholinesteráza, butyrylcholinesteráza, prolyloligopeptidáza, cytotoxicita

Alkaloidní extrakt, připraven z čerstvých cibulí, rostliny *Nerine bowdenii* Watson byl vybrán jako zdroj různých strukturních typů Amaryllidaceae alkaloidů s potenciálně zajímavou biologickou aktivitou. Směs alkaloidů, připravená pomocí základních metod extrakce, byla dělena za použití sloupcové chromatografie. Jako stacionární fáze byl použit oxid hlinitý. Benzín, chloroform a etanol byly použity jako mobilní fáze. Koncentrace jednotlivých mobilních fází se na základě postupné gradientové eluce měnila. Výsledkem sloupcové chromatografie, preparativní TLC a krystalizace byla izolace 21 alkaloidů, z nichž dva byly z této rostliny izolovány poprvé. Chemické struktury izolovaných sloučenin byly stanoveny na základě spektrometrických technik (NMR, MS, optická rotace) a porovnáním s daty uvedenými v literatuře. Pokud byl alkaloid izolován v dostatečné množství, byly provedeny testy na stanovení jeho biologické aktivity, konkrétně inhibiční aktivity vůči acetyl-, butyrylcholinesteráze a prolyloligopeptidáze, cytotoxicita a inhibice GSK-3 β .

Inhibiční aktivity vůči lidským cholinesterázám byla určena pomocí *in vitro* modifikované Ellmanovy spektrofotometrické metody. Nejvyšší inhibiční aktivitu vůči AChE vykazovaly undulatin (NB-2) s hodnotou IC_{50} $23,5 \pm 1,2 \mu\text{M}$ a powellin (NB-21), u kterého byla naměřena hodnota IC_{50} $29,1 \pm 1,6 \mu\text{M}$. V případě inhibiční aktivity vůči BuChE se většina alkaloidů jevila jako neaktivní ($IC_{50} > 100 \mu\text{M}$). Jedinou výjimkou byl 4'-*O*-demethylbelladin jehož hodnota IC_{50} byla $30,7 \pm 4,0 \mu\text{M}$.

Inhibiční aktivity vůči POP byla měřena pomocí spektrofotometrické metody za použití *Z*-Gly-Pro-*p*-nitroanilidu jako substrátu. Hodnoty IC_{50} naměřené u alkaloidů acetylkaraninu, buphandrinu, 4'-*O*-demethylbelladinu, 6-*O*-demethylbelladinu, 1-*O*-acetyllykorinu, krinamidinu, powellinu byly nižší než $1 \mu\text{M}$. Nejvyšší aktivita byla naměřena

u buphandrinu ($IC_{50} 0,37 \pm 0,04 \mu M$) a 4'-*O*-demetylbelladinu ($IC_{50} 0,37 \pm 0,03 \mu M$), jejichž hodnoty byly nejbliž hodnotám naměřených u standardu berberinu.

Ze všech izolovaných alkaloidů, které byly testovány na cytotoxicitu se pouze haemanthamin a buphanisin projevíly jako významně aktivní. Testovanými nádorovými buněčnými liniemi byly Caco-2 a HT-29 a zdravé buněčné linie Fhs 74 Int. Hodnoty IC_{50} zmíněných alkaloidů u jednotlivých buněčných linií byly: u haemanthaminu – Caco-2 $IC_{50} 0,99 \pm 0,14 \mu M$; HT-29 $IC_{50} 0,6 \pm 0,01 \mu M$; Fhs-74 Int $IC_{50} 19,5 \pm 8,9 \mu M$ a u buphanisinu – Caco-2 $IC_{50} 8,6 \pm 0,2 \mu M$; HT-29 $IC_{50} 5,3 \pm 1,7 \mu M$; Fhs 74 Int $22,8 \pm 2,6 \mu M$.