

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické botaniky

Kandidát: **Mgr. Kateřina Breiterová**

Školitel: **doc. Ing. Lucie Cahlíková PhD.**

Název disertační práce: **Alkaloidy rostlin čeledi Amaryllidaceae jako potenciální léčiva v terapii civilizačních onemocnění**

Klíčová slova: alkaloidy, Amaryllidaceae, analoga, AChE, BuChE, POP, GSK-3 β , progresse buněčného cyklu, apoptóza

Narcissus cv. Professor Einstein byl na základě získaných výsledků screeningových studií vybrán pro podrobnou fytochemickou práci za účelem co nejširšího spektra AmA. Z 34,3 kg čerstvých cibulí bylo získáno 31,7 g přečištěného alkaloidního extraktu, který byl rozdělen pomocí sloupcové chromatografie se stupňovitou elucí benzinem, chloroformem a ethanolem v různých poměrech na téměř 500 frakcí. Tyto frakce byly spojeny do 27 podfrakcí, z nichž bylo pomocí preparativní TLC, vakuové sloupcové chromatografie a krystalizace izolováno 25 alkaloidů v čistém stavu. Všechny látky byly identifikovány pomocí GC-MS, ESI-MS, NMR, optické otáčivosti a literatury a jedna z nich byla identifikována jako nový nepopsaný alkaloid lykorinového strukturního typu.

Všechny alkaloidy izolované v dostatečném množství byly podrobeny testům jejich biologické aktivity spojené s Alzheimerovou chorobou (inhibice *h*AChE, *h*BuChE, POP, GSK-3 β), cytotoxicitou, inhibicí AKR1C3 a inhibicí jaterního stadia malárie *in vitro*.

Inhibice erytrocytární *h*AChE a sérové *h*BuChE byla stanovena pomocí modifikované Ellmanovy metody. Kromě aktivity galanthaminu vůči *h*AChE byly všechny testované látky neaktivní. Stanovení inhibice vůči POP bylo provedeno spektrofotometricky a čtyři látky vykazaly aktivitu analogickou s použitým standardem berberinem ($IC_{50} = 142 \pm 21 \mu M$) a to homolykorin ($IC_{50} = 173 \pm 41 \mu M$), norlykoramin ($IC_{50} = 209 \pm 14 \mu M$), eugenin ($IC_{50} = 130 \pm 8 \mu M$) a norpluviin ($IC_{50} = 148 \pm 10 \mu M$). Tyto látky patří mezi nejúčinnější inhibitory POP z prozatím testovaných Amaryllidaceae alkaloidů. Alkaloidy masonin, karantin a 9-*O*-demethylhomolykorin vykazaly zajímavou inhibiční aktivitu vůči GSK-3 β za využití luminiscenční metody.

Velká část izolovaných alkaloidů byla podrobena screeningu na devíti nádorových (Jurkat, MOLT-4, A549, HT-29, PANC-1, A2780, HeLa, MCF-7 a SAOS-2) a dvou zdravých

(MRC-5 a NHDF) buněčných liniích. Z tohoto screeningu haemanthamin, lykorin a pankracin postoupily do stanovení IC_{50} na vybraných liniích. Haemanthamin a lykorin jsou pro své cytotoxické účinky známy, u pankracinu nebyly doposud popsány. Tato látka byla vybrána pro podrobné studie za účelem objasnění mechanismu účinku, a proto byla podrobena podrobné studii zásahu do buněčného cyklu a indukce apoptózy.

Některé z izolovaných látek byly podrobeny screeningu inhibiční aktivity vůči AKR1C3, ale žádná z nich nevykázala významnou aktivitu.

Alkaloidy byly také testovány na aktivitu vůči jaternímu stadiu malárie *in vitro*. Zde žádný z alkaloidů nevykázal význačnou aktivitu, tu vykázaly polosyntetické deriváty ambellinu – nejaktivnější byla látka s označením LC-104 ($IC_{50} = 0,048 \pm 0,014 \mu\text{M}$).