

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ BOTANIKY A EKOLOGIE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Alkaloidy čeledi Amaryllidaceae: rod Lycoris.

Alkaloids of family Amaryllidaceae: genus Lycoris.

Vedoucí katedry: doc. Ing. Lucie Cahlíková, Ph.D.

Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Lucie Cahlíková, Ph.D.

Hradec Králové, 2015

Petra Nekolná

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že tato práce je mým autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem čerpala při zpracování, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a jsou řádně citovány.

V Hradci Králové, 2015

.....

Podpis

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji grantu SVV 260 184 za finanční podporu, bez které by tato práce nemohla vzniknout.

Děkuji doc. Ing. Lucii Cahlíkové, Ph.D. za poskytnuté materiály, vstřícný přístup a odborné rady při zpracování této diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat paní Ireně Beranové za pomoc při obstarávání podkladových materiálů pro zpracování diplomové práce. V neposlední řadě děkuji celé Katedře farmaceutické botaniky a ekologie za vstřícnost a ochotu pomoci při řešení nejrůznějších problémů.

Obsah

1. Úvod	7
2. Cíle diplomové práce	8
3. Alkaloidy rostlin čeledi <i>Amaryllidaceae</i>	9
3.1. Biosyntéza a strukturní typy alkaloidů rostlin čeledi <i>Amaryllidaceae</i>	10
4. Rostliny rodu <i>Lycoris</i>	12
4.1. Fytochemicky významné druhy rostlin rodu <i>Lycoris</i>	12
4.1.1. <i>Lycoris radiata</i> Herbert	12
4.1.2. <i>Lycoris albiflora</i> Koidzumi	13
4.1.3. <i>Lycoris aurea</i> Herbert	14
4.1.4. <i>Lycoris aurea</i> var. <i>angustitepala</i> P. S. Hsu, Kurita, Z. Z. Yu & J. Z. Lin	15
4.1.5. <i>Lycoris traubii</i> W. Hayward	15
4.1.6. <i>Lycoris caldwellii</i> Traub	15
4.1.7. <i>Lycoris guangxiensis</i> Y. Xu & G. J. Fan	17
4.1.8. <i>Lycoris chinensis</i> Traub	17
4.1.9. <i>Lycoris incarnata</i> Comes ex Sprenger	18
4.1.10. <i>Lycoris longituba</i> Y. Xu et G. J. Fan	19
4.1.11. <i>Lycoris sprengeri</i> Comes ex Baker	20
4.1.12. <i>Lycoris squamigera</i> Maximowicz	21
4.2. Využití rostlin rodu <i>Lycoris</i> v tradiční medicíně	23
5. Přehled vzorců alkaloidů izolovaných z rostlin rodu <i>Lycoris</i>	32
5.1. Alkaloidy lykorinového strukturního typu	32
5.2. Alkaloidy homolykorinového strukturního typu	35
5.3. Alkaloidy krininového strukturního typu	37
5.4. Alkaloidy galanthaminového strukturního typu	38
5.5. Alkaloidy pankratistatinového strukturního typu	39
5.6. Alkaloidy tazettinového strukturního typu	40

5.7.	Alkaloidy montaninového strukturního typu	41
5.8.	Alkaloidy harmanového strukturního typu	41
5.9.	Alkaloidy belladinového strukturního typu	42
5.10.	Alkaloidy galasinového strukturního typu	42
5.11.	Alkaloidy jiných strukturních typů	42
6.	Biologická aktivita	44
6.1.	Protinádorová aktivita	44
6.1.1.	Charakteristika onemocnění	44
6.1.2.	Buněčný cyklus, apoptóza a vznik nádorových buněk	45
6.1.3.	Protinádorová aktivita alkaloidů rostlin rodu <i>Lycoris</i>	47
6.1.3.1.	Lykorinový strukturní typ	47
6.1.3.2.	Krininový strukturní typ	49
6.1.3.3.	Pankratistatinový strukturní typ	53
6.1.3.4.	Homolykorinový strukturní typ	53
6.1.4.	Shrnutí protinádorové aktivity alkaloidů izolovaných z rostlin rodu <i>Lycoris</i> ..	54
6.2.	Inhibiční aktivita vůči acetylcholinesteráze a butyrylcholinesteráze	56
6.2.1.	Charakteristika inhibitorů cholinesteras	56
6.2.2.	Alzheimerova choroba	56
6.2.2.1.	Klinický obraz	57
6.2.2.2.	Inhibitory cholinesteras v léčbě Alzheimerovy choroby	58
6.2.3.	Alkaloidy rostlin čeledi <i>Amaryllidaceae</i> jako inhibitory cholinesteras	58
6.2.3.1.	Galanthaminový strukturní typ	58
6.2.3.2.	Lykorinový strukturní typ	60
6.2.4.	Alkaloidy rostlin rodu <i>Lycoris</i> jako inhibitory cholinesteras	60
6.3.	Antimalarická aktivita	62
6.3.1.	Charakteristika onemocnění	62
6.3.2.	Patogeneze	62

6.3.3.	Klinický obraz.....	63
6.3.4.	Terapie.....	63
6.3.5.	<i>In vitro</i> antimalarická aktivita alkaloidů rostlin rodu <i>Lycoris</i>	64
6.3.5.1.	Lykorinový strukturní typ.....	64
6.3.5.2.	Krininový strukturní typ.....	66
6.3.5.3.	Homolykorinový strukturní typ.....	67
6.3.6.	Shrnutí antimalarické aktivity alkaloidů izolovaných z rostlin rodu <i>Lycoris</i> ..	67
7.	Závěr	70
8.	Literatura	72
9.	Seznam zkratk	79
	Abstrakt	80
	Abstract	81

1. Úvod

Rostliny a jejich obsahové látky jsou odpradáвна využívány v léčitelství a medicíně. I v moderní době představují rostliny významný zdroj nových sloučenin s potenciálním využitím ve farmacii při hledání nových léčiv. Některé přírodní látky nacházejí přímé využití v terapii různých chorob. Příkladem takových látek je alkaloid galanthamin, který je od roku 2000 využíván při léčbě Alzheimerovy choroby. Tato sloučenina byla poprvé izolována z rostlin čeledi *Amaryllidaceae*. Objev významných biologických účinků galanthaminu vedl ke zvýšení zájmu o tuto skupinu rostlin. Postupně jsou fytochemicky studovány jednotlivé rody a druhy této čeledi a objevovány nové alkaloidy.

V návaznosti na biologické účinky galanthaminu je alkaloidům čeledi *Amaryllidaceae* věnována významná pozornost z důvodu jejich potenciální inhibiční aktivity vůči enzymu acetylcholinesteráze (AChE). Tyto látky však mají mnohem širší potenciál využití v medicíně. Jedním z nejvýraznějších a zároveň nejvýznamnějších biologických účinků amarylkovitých alkaloidů je jejich protinádorová aktivita. Zajímavé jsou také inhibiční účinky těchto látek na původce malárie. Biologická aktivita alkaloidů rostlin čeledi *Amaryllidaceae* je velice rozličná, což je dáno jejich strukturní variabilitou. Lze je rozdělit do několika strukturních typů, přičemž zástupci různých strukturních typů se od sebe mohou značně lišit a mohou vykazovat i jiné biologické účinky. U látek, u kterých byla prokázána biologická aktivita, jsou sledovány společné strukturní znaky jejich molekul a odvozovány předpokládané vztahy mezi strukturou a účinkem.

Jedním z rodů rostlin čeledi *Amaryllidaceae* je také rod *Lycoris*. Zástupci této skupiny rostlin patří mezi hojně studované druhy. Náplní této práce je charakteristika rostlin rodu *Lycoris* a to především po fytochemické stránce. Dílčím cílem práce je sestavení souboru alkaloidů, které byly zatím z těchto rostlin izolovány, a shrnutí poznatků o jejich biologické aktivitě, která byla doposud u těchto látek testována.

2. Cíle diplomové práce

1. Vypracovat přehled rostlin rodu *Lycoris*, kterým byla věnována pozornost po fytochemické stránce
2. Vytvořit soubor alkaloidů, které byly doposud izolovány z rostlin rodu *Lycoris*
3. Shrnout současné poznatky o biologické aktivitě alkaloidů izolovaných z rostlin rodu *Lycoris*

3. Alkaloidy rostlin čeledi *Amaryllidaceae*

Čeď *Amaryllidaceae* (amarylkovitě) patří v současné době mezi nejvíce studované čeledi rostlin. Zahrnuje kolem 1100 druhů rozdělených do více než 75 rodů.¹ Jedná se o krytosemenné rostliny s oddenky, hlízkami nebo cibulemi.² Jejich přirozený výskyt je v oblastech tropů a subtropů v jižní Africe a Jižní Americe. V České republice jsou zastoupeny rody *Galanthus* (sněžinka), *Narcissus* (narcis) a *Leucojum* (bledule).³

Zájem o tuto skupinu rostlin pramení především z významných biologických účinků jejich sekundárních metabolitů. Charakteristickými obsahovými látkami amarylkovitých rostlin jsou alkaloidy. Tyto sloučeniny se vyskytují v celé rostlině, ale u většiny zástupců jsou v největším množství zastoupeny v podzemních orgánech, tedy cibulích a hlízkách. Každý rod amarylkovitých rostlin obsahuje řadu alkaloidů, z nichž je většinou určitý strukturní typ pro daný rod charakteristický a vyskytuje se v něm ve vyšších koncentracích. Ostatní typy alkaloidů jsou pak přítomny v menších množstvích, což souvisí s enzymatickou výbavou daného rostlinného rodu a druhu.⁴

Použití amarylkovitých rostlin v lidové medicíně se datuje již od dob starověku. Máme doklady o tom, že již ve 4. století před Kristem Hippokrates z Kóu použil extrakt z druhu *Narcissus poeticus* ve formě olejové emulze k léčbě nádorů v oblasti dělohy.⁵ Identifikace vlastních účinných látek těchto rostlin však spadá do dob mnohem mladších. První alkaloid této čeledi, lykorin, byl izolován roku 1877 z druhu *Narcissus pseudonarcissus*.⁵ Zájem o alkaloidy této čeledi je dlouhodobý, ale významně se zvýšil po zavedení galanthaminu jako inhibitoru AChE do terapie Alzheimerovy choroby v roce 2000 pod komerčním názvem Reminyl.²

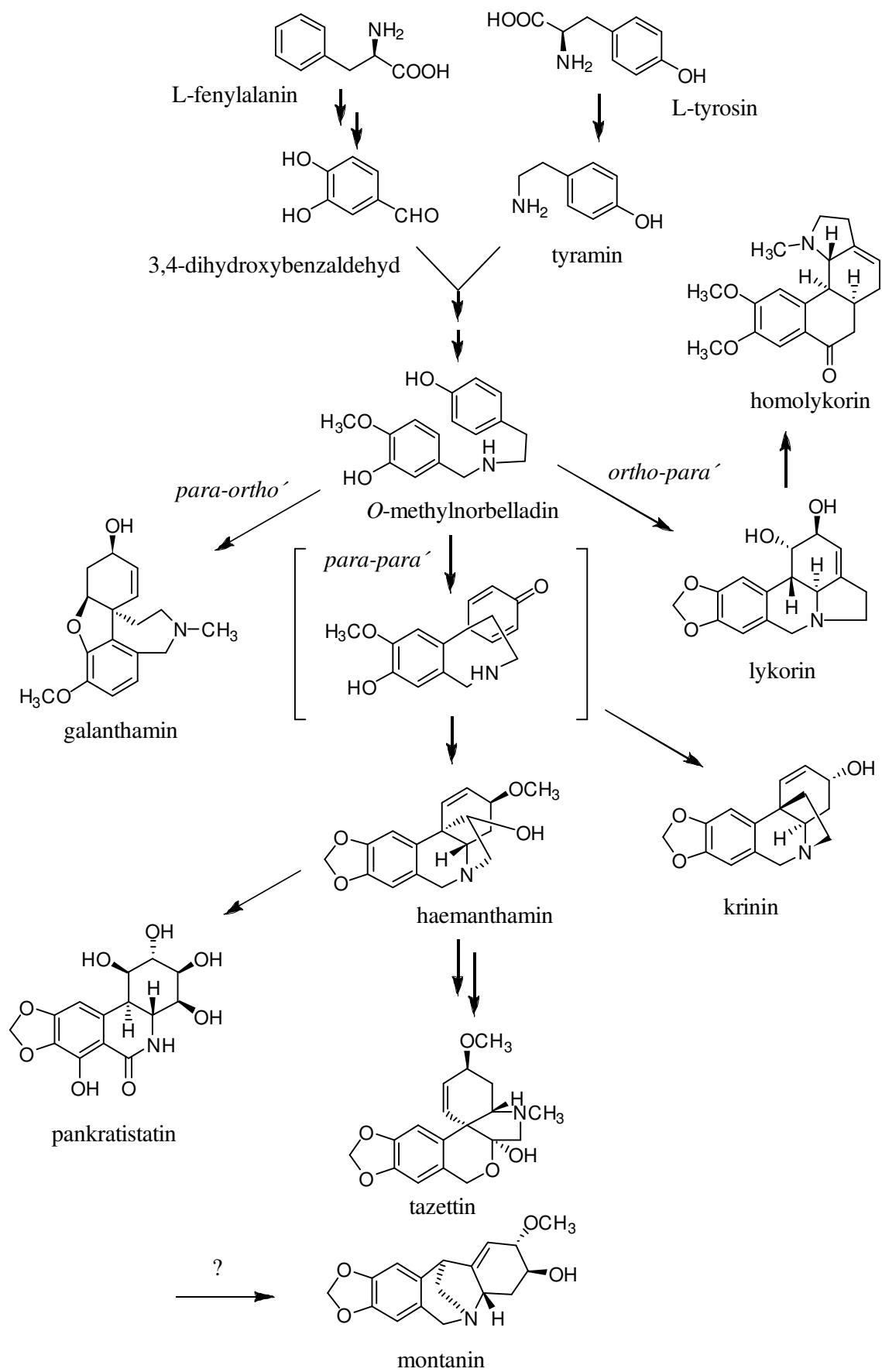
V současné době jsou studovány různé rody rostlin čeledi *Amaryllidaceae*. Studuje se výskyt jednotlivých alkaloidů, jejich množství v různých rostlinných částech a v neposlední řadě je studována biologická aktivita těchto látek. Biologická aktivita amarylkovitých alkaloidů je velice široká. Kromě již zmíněného inhibičního účinku na enzym acetylcholinesterázu u nich byl prokázán účinek protinádorový, antivirový, antimalarický, protizánětlivý, analgetický a účinek na centrální nervový systém.⁶

3.1. Biosyntéza a strukturní typy alkaloidů rostlin čeledi *Amaryllidaceae*

Biosyntetická cesta základních strukturních typů amarylkovitých alkaloidů se označuje jako norbelladinová.³ Výchozími látkami jsou dvě aromatické aminokyseliny L-fenylalanin a L-tyrosin. Tyto dvě látky poskytují přes několik mezistupňů vlastní prekurzor amarylkovitých alkaloidů, kterým je *O*-methylnorbelladin.⁹ Podle oxidativního spojení dvou aromatických kruhů *O*-methylnorbelladinu vzniká sedm základních strukturních typů, které jsou pojmenovány podle svého hlavního zástupce. Jedná se o následující strukturní typy: lykorinový (lykorin), galanthaminový (galanthamin), haemanthaminový (haemanthamin), homolykorinový (homolykorin), pankratistatinový (pankratistatin), krininový (krinin) a tazettinový (tazettin).^{3,7} Schematicky je biosyntéza amarylkovitých alkaloidů znázorněna na Obr. 1.^{3,7}

Z Obr. 1 je patrné, že prekurzorem všech strukturních typů amarylkovitých alkaloidů je *O*-methylnorbelladin. Z této sloučeniny jsou přímo odvozené alkaloidy lykorinového a galanthaminového strukturního typu. Z lykorinového typu je následně odvozen typ homolykorinový. Oxidativním spojením kruhů *O*-methylnorbelladinu v polohách *para-para'* vzniká meziprodukt, ze kterého je odvozen typ krininový a haemanthaminový. Pankratistatinový a tazettinový typ jsou odvozeny od strukturního typu haemanthaminového.

Výše zmíněné strukturní typy amarylkovitých alkaloidů patří mezi základní, ale existují i další typy. Mnohé z nich jsou však zastoupeny pouze jedním zástupcem. U některých strukturních typů není zatím plně objasněna jejich biosyntéza.



Obr. 1 Biosynetická cesta hlavních strukturních typů alkaloidů amarylkovitých rostlin^{3,7}

4. Rostliny rodu *Lycoris*

Rod *Lycoris* čeledi *Amaryllidaceae* zahrnuje okrasné rostliny s původním výskytem v mírných lesnatých oblastech východní Asie zejména na území Číny a Japonska. Někteří zástupci jsou endemickými druhy Číny. V současné době je známo více než 20 druhů těchto rostlin.⁸

Rostliny rodu *Lycoris* jsou trvalky charakteristické tvorbou cibulí. Listy jsou čárkovité a v závislosti na druhu se objevují buď před a nebo po kvetení. Květenstvím je okolík, který je podepřen dvěma listeny. Okvěť je zbarveno bíle, krémově, žlutě, růžově nebo červeně. Barva květů závisí na druhu a případně také na odrůdě rostliny. U některých zástupců jsou okraje okvětní lístků charakteristicky zvlněné. Jedná se o oboupohlavné rostliny. Plodem je tobolka.

Podobně jako u jiných zástupců čeledi *Amaryllidaceae* jsou hlavními obsahovými látkami rostlin rodu *Lycoris* alkaloidy. Jednotlivé druhy rodu *Lycoris* jsou fytochemicky podrobně zkoumány a jsou identifikovány stále nové alkaloidní struktury.

V rostlinách rodu *Lycoris* lze nalézt alkaloidy všech základních strukturních typů amaryllkovitých alkaloidů, které byly zmíněny výše. Zastoupení jednotlivých alkaloidů v konkrétních druzích rodu *Lycoris* je shrnuto v následující tabulce (Tab.1).

Následující přehled uvádí základní charakteristiku rostlin rodu *Lycoris*, kterým byla věnována pozornost po fytochemické stránce.

4.1. Fytochemicky významné druhy rostlin rodu *Lycoris*

4.1.1. *Lycoris radiata* Herbert

Lycoris radiata je z fytochemického hlediska nejvíce prostudovaným zástupcem rostlin rodu *Lycoris*. Do dnešní doby bylo z tohoto druhu izolováno více než 60 alkaloidů (Tab. 1).

Jedná se o druh s endemickým výskytem v Číně, Japonsku, Koreji a Nepálu. Vytváří kulovité cibule, které mají průměr 1 – 3 cm.⁹ Listy se u této rostliny objevují na podzim. Mají tmavě zelenou barvu se světle zbarveným středním žebrem a jsou úzce čárkovité. Délka listů se pohybuje kolem 15 cm a šířka kolem 0,5 cm.⁹ Špičky listů jsou tupé. V době kvetení dosahuje stonek výšky asi 30 cm a nese okolíky složené ze 4 – 7

květů. Květenství je podepřeno dvěma listy kopinatého tvaru o rozměrech asi $3,5 \times 0,5$ cm.⁹

Anglický název této rostliny, „Spider Lily“ (pavoučí lilie), odkazuje na tvar květů (Obr. 2). Okvětní lístky jsou úzce kopinaté, dlouhé asi 3 cm a široké 0,5 cm.⁹ Mají silně zvlněný okraj. Z okvěti nápadně vyčnívají tyčinky. Květy jsou jasně červené a objevují se od srpna do září.⁹

Lycoris radiata roste na stinných a mokřích místech, podél potoků a na skalnatých místech v nadmořských výškách kolem 1000 (– 2500) m.n.m.⁹ Tato rostlina je zdrojem galanthaminu pro farmaceutické účely v Číně a Japonsku.¹⁰



Obr. 2 *Lycoris radiata*¹¹

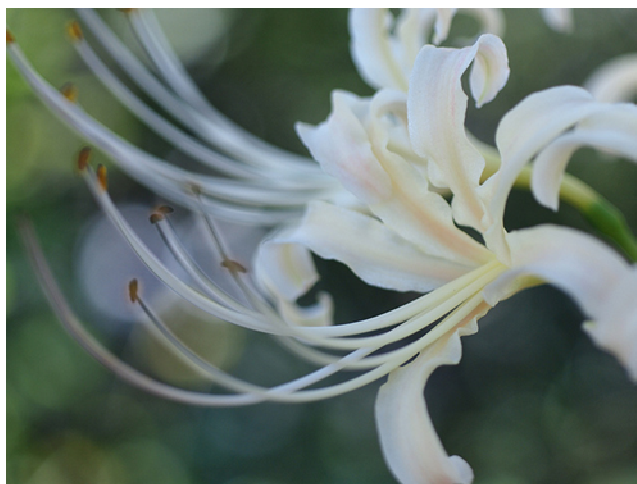
4.1.2. *Lycoris albiflora* Koidzumi

Lycoris albiflora je druh rostoucí na úbočích hor v čínské provincii Jiangsu, v Japonsku a Koreji.⁹ Do dnešní doby bylo z *L. albiflora* izolováno kolem 15 alkaloidů (Tab. 1).

Tato rostlina vytváří vejčité cibule o průměru 4 cm. Na jaře se objevují zelené čárkovité listy dlouhé asi 35 cm a široké 1,5 cm.⁹ Střední žebro listů není zřetelně světlé. Stonek o délce asi 60 cm nese okolíky tvořené 6 – 8 květy a podepřené dvěma listy obkopinatého tvaru o délce 3,5 cm a šířce 1,2 cm.⁹

Barva květů je u poupat růžová a během kvetení se obvykle postupně mění na krémovou a později bílou. Na povrchu okvětních lístků je několik roztroušených růžových proužků (Obr. 3) a naspodu je červená hlavní žilka. Velikost okvětních lístků

se pohybuje kolem 6 cm na délku a 1,2 cm na šířku.⁹ Mají obkopinatý tvar. Tyčinky jsou obvykle stejně dlouhé jako okvěti nebo ho mírně přesahují. Nitky tyčinek jsou na vrcholu světle červené. Čnělka přesahuje svou délkou okvěti. Blizna je růžově červená. *Lycoris albiflora* kvete od srpna do září.⁹



Obr. 3 *Lycoris albiflora*¹²

4.1.3. *Lycoris aurea* Herbert

Druh *Lycoris aurea* byl pojmenován podle svých jasně žlutých květů (Obr. 4). Doposud bylo z tohoto druhu izolováno kolem 30 alkaloidů (Tab. 1).

Rostlina vytváří vejčité cibule o průměru asi 5 cm.⁹ Listy se objevují na podzim, jsou dlouhé asi 60 cm a široké 1,7 – 2,5 cm.⁹ Jejich čepel má mečovitý tvar s ostrou špičkou. Střední žilka listů je světlá.

Stonek o délce asi 60 cm nese okolík žlutých květů, jejichž okvětní lístky mají silně zvlněný okraj a jsou výrazně stočené směrem ven ze středu květu (Obr. 4). Mají obkopinatý tvar, délku asi 6 cm a šířku 0,4 – 1,0 cm. Objevují se od srpna do září.⁹ Na spodní straně okvětních lístků je světle zelená hlavní žilka. Tyčinky se žlutými nitkami přecházejí okvěti, jsou dlouhé 7 – 12 cm.⁹ Čnělka má na konci růžově červené zbarvení.

Lycoris aurea roste zejména na stinných vlhkých místech, ve skalních štěrbinách a na úbočích hor.⁹ Kromě Číny lze tuto rostlinu nalézt také v Indii, Indonésii, Japonsku, Laosu, Myanmaru, Pákistánu, Thajsku a Vietnamu. V jižní Číně je též pěstována jako okrasná rostlina.⁹



Obr. 4 *Lycoris aurea*¹³

4.1.4. *Lycoris aurea* var. *angustitepala* P. S. Hsu, Kurita, Z. Z. Yu & J. Z. Lin

Lycoris aurea var. *angustitepala* je označení pro rostliny z jihu čínské provincie Gansu a jihozápadu čínské provincie Shaanxi.⁹ Tyto rostliny jsou charakteristické svými rovnými okvětními lístky o šířce 0,4 – 0,8 cm a dlouhými tyčinkami, které jsou až dvakrát delší než okvěti.⁹

4.1.5. *Lycoris traubii* W. Hayward

Jako *Lycoris traubii* (Obr. 5) byly pojmenovány rostliny rostoucí v Tchajwanu a na jihu Japonska, které jsou blízce příbuzné druhu *Lycoris aurea*.⁹

4.1.6. *Lycoris caldwellii* Traub

Lycoris caldwellii je druh rostoucí na stinných a vlhkých místech a na svazích v čínských provinciích Jiangsu, Jianxi a Zejiang.⁹ Tento druh není zatím fytochemicky příliš prozkoumán.

Rostliny druhu *L. caldwellii* tvoří kulovité cibule o průměru asi 4 cm. Brzy na jaře se objevují zelené čárkovité listy o délce asi 30 cm a šířce 1,5 cm.⁹ Na rozdíl od většiny rostlin rodu *Lycoris* není u tohoto druhu na listech zřetelně světlé střední žebro.⁹



Obr. 5 *Lycoris traubii*¹⁴

V září se u této rostliny tvoří okolíky o 6 – 7 květech.⁹ Poupata mají před vykvetením růžovou až krémovou barvu, která během kvetení postupně bledne a mění se na žlutavě bílou (Obr. 6). Báze jsou žlutavé. Okvětní lístky mají jemně zvlňný okraj, jsou obkopynaté, dlouhé asi 7 cm a široké 1,2 cm.⁹ Tyčinky jsou kratší než okvěť a jejich nitky mají bílou barvu. Čnělka je téměř stejně vysoká jako okvěť a blizna je zbarvena růžově.⁹



Obr. 6 *Lycoris caldwellii*¹⁴

4.1.7. *Lycoris guangxiensis* Y. Xu & G. J. Fan

Druh *Lycoris guangxiensis* není zatím příliš fytochemicky prostudován. Již v roce 1986 však bylo z této rostliny izolováno několik alkaloidů (Tab. 1), mezi nimiž byl též významný alkaloid galanthamin.¹⁵

Rostliny druhu *L. guangxiensis* se přirozeně vyskytují na stinných a vlhkých místech a na svazích ve smíšených lesích čínského regionu Guangxi.⁹ Vytváří vejčité cibule o průměru asi 3 cm. Časně zjara se objevují úzké čárkovité listy s tupým koncem dlouhé 24 – 30 cm a široké 1,0 – 1,2 cm.⁹ Listy jsou tmavě zelené se světle zbarvenou hlavní žilkou. Stonek dlouhý asi 50 cm nese okolíky složené ze 3 – 6 květů. Květenství podpírají dva listeny světle hnědé barvy vejčitého až kopinatého tvaru dlouhé 4 cm a široké 1,0 – 1,5 cm.⁹

Barva květů se mění v závislosti na stádiu kvetení. Poupata jsou žlutá s červenými proužky, později jsou květy žluté. Okvětní lístky jsou obvejčité až obkopinaté, dlouhé asi 7 cm a široké 1,5 cm.⁹ Na bázi jsou okvětní lístky rovné a připomínají stonek, směrem k vrcholu se jejich okraj jemně vlní. Tyčinky jsou téměř stejně dlouhé jako okvětní lístky, blizny svou délkou okvěti přesahují. Tento druh kvete od července do konce srpna.⁹

4.1.8. *Lycoris chinensis* Traub

Lycoris chinensis je příbuzným druhem *Lycoris aurea*, ale na rozdíl od něj vytváří listy na jaře. Listy jsou zelené, mají zřetelně světlé střední žebro a kulatý vrchol. Stonek je vysoký asi 60 cm a na jeho vrcholu se v období července až srpna objevují okolíky tvořené 5 – 6 květy. Květenství podpírají dva kopinaté listeny o délce 2,5 cm a šířce 0,8 cm.⁹

Květy mají jasně žlutou barvu podobně jako u druhu *Lycoris aurea* (Obr. 7). Okvětní lístky jsou silně stočené směrem ven ze středu květu a mají zvlněný okraj. Jejich tvar je obkopinatý. Mají délku asi 6 cm a šířku 1 cm.⁹ Tyčinky bývají dlouhé stejně jako okvěti nebo jsou trochu delší. Nitky jsou žluté. Čnělka je na konci červeně zbarvená.⁹

Lycoris chinensis vyhledává stinná a mokrá stanoviště. Roste na svazích a ve smíšených lesích v čínských provinciích Henan, Jinagsu, Shaanxi, Sichuana a Zhejiang a v jižní Koreji.⁹ Doposud bylo z tohoto druhu izolováno 11 alkaloidů (Tab. 1)



Obr. 7 *Lycoris chinensis*¹⁴

4.1.9. *Lycoris incarnata* Comes ex Sprenger

Původní výskyt tohoto druhu je v čínských provinciích Hubei a Yunnan.⁹ Druh není zatím příliš fytochemicky prozkoumán. Do dnešní doby bylo izolováno 10 alkaloidů (Tab. 1), mezi nimi i významný alkaloid galanthamin.¹⁶

L. incarnata vytváří vejčité cibule o průměru asi 3 cm.⁹ Na začátku jara se objevují zelené čárkovité listy mírně se zužující směrem k vrcholu. Jsou dlouhé asi 50 cm a široké 1,2 cm.⁹ Střední žilka listu je světlá. Květy se objevují v září a mění svou barvu v závislosti na vývojovém stádiu. Poupata mají okvětní lístky bílé s červenou hlavní žilkou. Po rozkvetu se barva postupně mění na světle růžovou s nachově zabarvenou střední žilkou (Obr. 8). Okvětní lístky jsou obkopynaté o délce asi 5 cm a šířce 1,2 cm.⁹ Okraj je pouze jemně zvlněný. Tyčinky jsou vysoké stejně jako okvěť. Nitky tyčinek jsou nachově zabarvené stejně jako čnělka, která svou délkou lehce přesahuje okvětní lístky.



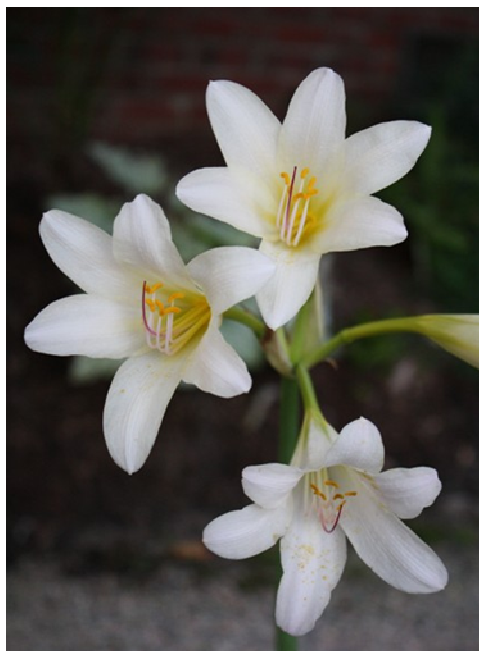
Obr. 8 *Lycoris incarnata*¹⁷

4.1.10. *Lycoris longituba* Y. Xu et G. J. Fan

Druh *Lycoris longituba* existuje ve dvou varietách. *Lycoris longituba* var. *longituba* (Obr. 9) je druh s bílými květy, které mají svrchu světle červené proužky. *Lycoris longituba* var. *flava* má okvěti žluté. Obě variety lze nalézt v čínské provincii Jiangu. ⁹ Rostou v nízkých nadmořských výškách na mokřích a stinných místech. Do dnešní doby bylo z tohoto druhu izolováno kolem 30 alkaloidů (Tab. 1).

Cibule tohoto druhu jsou vejčité a mají průměr asi 4 cm. ⁹ Listy se objevují časně zjara. Mají kopinatý tvar, který se směrem ke špičce postupně zužuje, délku asi 40 cm a šířku 1,5 – 2,5 cm. ⁹ Je na nich patrné světlé střední žebro. Konce listů jsou zakulacené. Stonek dosahuje v době kvetení výšky 60 – 80 cm. ⁹ Okolík tvoří 5 – 7 květů, které jsou zbarvené v závislosti na varietě bíle nebo žlutě. Květenství podpírají dva listy kopinatého tvaru délky asi 5 cm s postupně se zužující špičkou. Okvětní lístky mají eliptický tvar, délku 6 – 8 cm a šířku asi 1,5 cm. ⁹ Okraje okvětních lístků nejsou u tohoto druhu zvlňené, ale lístky jsou mírně zahnuté směrem ven ze středu květu (Obr. 9). Tyčinky jsou o něco kratší než okvěti.

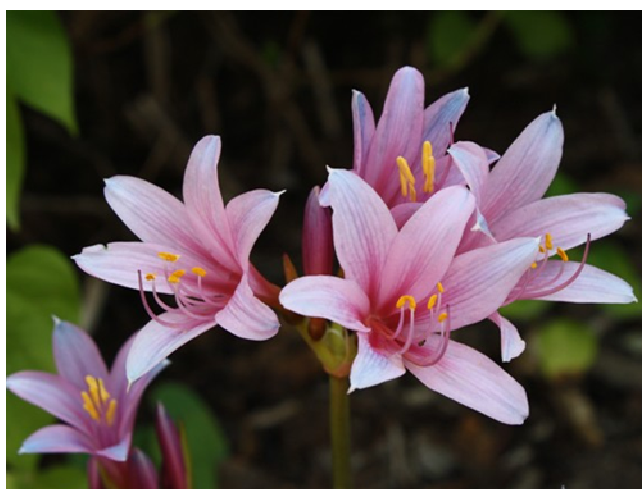
Lycoris longituba var. *longituba* kvete od července do srpna, *Lycoris longituba* var. *flava* kvete v srpnu. ⁹



Obr. 9 *Lycoris longituba*¹⁴

4.1.11. *Lycoris sprengeri* Comes ex Baker

Druh *Lycoris sprengeri* roste v řídkých lesích, bambusových lesích a na stinných a vlhkých místech a na svazích hor v čínských provinciích Anhui, Hubei, Jiangsu a Zhejiang.⁹ Doposud bylo z tohoto druhu izolováno 22 alkaloidů patřících do různých strukturních typů (Tab. 1).



Obr. 10 *Lycoris sprengeri*¹⁴

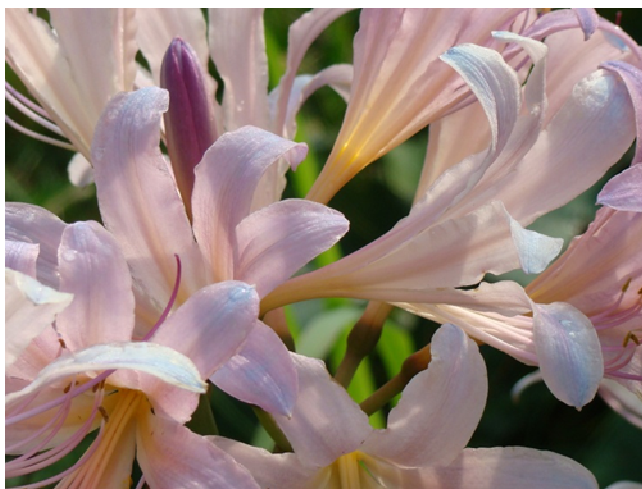
Rostliny tohoto druhu tvoří vejčité cibule o průměru asi 3,5 cm.⁹ Na začátku jara se objevují čárkovité, asi 30 cm dlouhé a 1 cm široké listy s tupou špičkou. Stonek dorůstá délky až 60 cm a v období od srpna do září nese okolíky tvořené 4 – 6 květy.⁹ Okolíky jsou podepřeny dvěma listeny o rozměrech 3,5 × 1,2 cm.⁹ Okvětní lístky mají nachovou barvu a jejich konce jsou často namodralé (Obr. 10). Mají obkopinatý tvar, délku asi 4,5 cm a šířku 1 cm.⁹ Okraj okvětních lístků není zvlňný. Tyčinky jsou téměř stejně dlouhé jako okvěti, čnělka trochu přesahuje.⁹

4.1.12. *Lycoris squamigera* Maximowicz

Tento druh roste na stinných a vlhkých místech v čínských provinciích Jiangsu, Shandong a Zhejiang a dále v Japonsku a Koreji.⁹ Doposud bylo izolováno 26 alkaloidů (Tab. 1).

L. squamigera tvoří cibule vejčitého tvaru o průměru asi 5 cm.⁹ Listy se poprvé objevují na podzim a podruhé časně zjara. Mají čárkovitý tvar s tupou špičkou, délku asi 8 cm a šířku asi 2 cm.⁹ Stonek dorůstá výšky asi 60 cm a nese okolík tvořený 4 nebo 5 květy.⁹ Květenství podpírají dva kopinaté listeny dlouhé asi 6 cm a široké 1,3 cm.⁹

Barva květů je světle nachová až narůžovělá (Obr. 11). Okvětní lístky jsou na bázi žlutavé, mají obkopinatý tvar a délku asi 7 cm.⁹ Okraj okvětních lístků je na bázi jemně zvlňný. Tyčinky jsou skoro stejně dlouhé jako okvěti, čnělka okvěti přesahuje. *Lycoris squamigera* kvete v srpnu.⁹



Obr. 11 *Lycoris squamigera*¹⁸

Kromě výše zmíněných druhů rostlin rodu *Lycoris* existují i další, např. druhy *L. anhuiensis* Y. Xu et G. J. Fan in Y. Xu et al., *L. houdyshelii* Traub, *L. rosea* Traub et Moldenke (Obr. 12), *L. shaanxiensis* Y. Xu et Z. B. Hu in Y. Xu et al. či *L. straminea* Lindley (Obr.13). Tyto druhy zatím nejsou fytochemicky prozkoumány, mohly by však být dalšími potenciálními zdroji alkaloidů.



Obr. 12 *Lycoris rosea*¹⁹



Obr. 13 *Lycoris straminea*¹⁴

4.2. Využití rostlin rodu *Lycoris* v tradiční medicíně

O využití rostlin čeledi *Amaryllidaceae* v tradiční medicíně máme záznamy již od dob starověku.⁵ Někteří zástupci těchto rostlin jsou též využívány v lidovém léčitelství v mnoha zemích a kulturách po celém světě. V oblasti jižní Afriky jsou například používány jako prostředky ke zmírnění otoků, léčbě problémů močových cest a ošetřování svědivých vyrážek.²⁰

V rámci rodu *Lycoris* má dlouhodobou tradici v použití v lidovém léčitelství druh *Lycoris radiata*. V Číně nese tato rostlina název „Shi Suan“ a je zde již po tisíce let využívána tradiční čínskou medicínou (TCM) jako léčivá bylina^{6, 21} Ve slavném díle TCM, Kompediu čínské medicíny, lze nalézt záznamy o využití *L. radiata* jako antidota při otravách jedy, látky užívané k úlevě při zánětech, zmírnění bolesti, snížení produkce hlenu a dále jako prostředku s diuretickým účinkem.²¹ V lidovém léčitelství je tato rostlina dále užívána k léčbě onemocnění hrtanu, furunklu, karbunklu a hnisavých ran.²²

Jak vidíme, druh *L. radiata* má v lidovém léčitelství místo především jako látka ovlivňující zánětlivé pochody a produkci hnisu. Použití této léčivky je kromě Číny rozšířeno i v jiných zemích.²¹

Tabulka 1. Alkaloidy identifikované v rastlinách rodu *Lycoris**

	<i>L. radiata</i>	<i>L. albiflora</i>	<i>L. aurea</i>	<i>L. incarnata</i>	<i>L. traubii</i>	<i>L. guangxiensis</i>	<i>L. longituba</i>	<i>L. squamigera</i>	<i>L. caldwellii</i>	<i>L. sprengeri</i>	<i>L. chinensis</i>
Lykorinový typ											
1 armabellisin							51				
2 <i>epi</i> -zephyranthin	56										
3 1,2-dihydroxy-anhydrolykorin- <i>N</i> -oxid			63								
4 3-hydroxy-anhydrolykorin- <i>N</i> -oxid								69			
5 5,6-dehydrodihydrolykorin	64										
6 5,6-dehydrolykorin	6										
7 1-hydroxy-anhydrolykorin-7-on			63								
8 1- <i>O</i> -(3' <i>S</i>)-hydroxybutanoyllykorin					49						
9 4- <i>O</i> -methyllykorin	56		46								
10 7-oxodihydrolykorin	64										
11 16-epipluviin										55	
12 anhydrolykorin-7-on			63								
13 dihydrolykorin	64, 56										
14 galanthin	8			16						55	
15 hippadin										55	
16 hippamin	56						50				
17 inkartin				16			50				

	<i>L. radiata</i>	<i>L. albiflora</i>	<i>L. aurea</i>	<i>L. incarnata</i>	<i>L. traubii</i>	<i>L. guangxiensis</i>	<i>L. longituba</i>	<i>L. squamigera</i>	<i>L. caldwelii</i>	<i>L. sprengeri</i>	<i>L. chinensis</i>
18 karanin	65										
19 lykoranin A	66										
20 lykoranin B	66										
21 lykorin	64, 56, 67, 65, 48	32	45, 46, 47, 48	16		15	50, 68	52, 48		55	53, 54
22 lykosprenin										55	
23 <i>N</i> -(chloromethyl)narcissidinium chlorid										55	
24 narcissidin										55	
25 <i>N</i> -chloromethylungiminorin	56										
26 norpluviin								48			
27 pluviin	56		47					48		55	54
28 pseudolykorin	56, 48		46, 48			15		52, 48			
29 sternbergin					49						
30 tortuosin										55	
31 ungiminorin	65			16	49						
32 ungiminorin- <i>N</i> -oxid				16							
Homolykorinový typ											
33 8,9-methyldioxyhomolykorin- <i>N</i> -oxid	6										

	<i>L. radiata</i>	<i>L. albiflora</i>	<i>L. aurea</i>	<i>L. incarnata</i>	<i>L. traubii</i>	<i>L. guangxiensis</i>	<i>L. longituba</i>	<i>L. squamigera</i>	<i>L. caldwelii</i>	<i>L. sprengeri</i>	<i>L. chinensis</i>
34 8-hydroxy-homolykorin- α - <i>N</i> -oxid			63								
35 8- <i>O</i> -acetylhomolykorin- α - <i>N</i> -oxid	64										
36 2 α -hydroxy-6- <i>O</i> -methylodulin	56,64		47								
37 2 α -hydroxy-6- <i>O</i> - <i>n</i> -butylodulin			47								
38 2 α -methoxy-6- <i>O</i> -ethylodulin	56										
39 5-hydroxy-10- <i>O</i> -demethylhomolykorin	65										
40 9- <i>O</i> -demethyl-2 α -hydroxyhomolykorin	56										
41 9- <i>O</i> -demethylhomolykorin	56, 67	32									
42 hippeastrin	56, 67, 65, 64	32	45, 47					48			54
43 hippeastrin- <i>N</i> -oxid	67, 65	32									
44 homolykorin	64,67, 48	32	45, 47, 48					48		55	54
45 homolykorin- <i>N</i> -oxid	6, 67	32									
46 lykorenin	48		46, 48					48		55	54
47 lykosinin A			45								
48 lykosinin B			45							55	
49 <i>O</i> -ethyllykorenin	56		46								
50 <i>O</i> -methyllykorenin	56, 67		45, 46, 47							55	

	<i>L. radiata</i>	<i>L. albiflora</i>	<i>L. aurea</i>	<i>L. incarnata</i>	<i>L. traubii</i>	<i>L. guangxiensis</i>	<i>L. longituba</i>	<i>L. squamigera</i>	<i>L. caldwelii</i>	<i>L. sprengeri</i>	<i>L. chinensis</i>
51 <i>O</i> -methyllykorenin- <i>N</i> -oxid	67										
52 <i>O</i> - <i>n</i> -butyllykorenin			47								
53 radiatin	56										
54 ungerin	65										
Krininový typ											
55 3 α ,6 β -diacetylbulbispermin	6										
56 3 α -hydroxy-6 β -acetylbuslbispermin	6										
57 3 α -methoxy-6 β -acetylbuslbispermin	6										
58 6 β -acetoxykrinamin	64										
59 6-hydroxykrinamin	64						51				
60 8- <i>O</i> -demethylmaritidin	8										
61 11-hydroxyvittatin	8						68	52			
62 haemanthamin		32	45					52		55	
63 haemanthidin	67, 65	32	45				50	52		55	54
64 krinin			47			15	68				54
65 makowin							51				
66 <i>O</i> -demethylhaemanthamin	65										
67 vittatine	67							48			
Galanthaminový typ											
68 <i>N</i> -(chloromethyl)lykoramin			47				50				

	<i>L. radiata</i>	<i>L. albiflora</i>	<i>L. aurea</i>	<i>L. incarnata</i>	<i>L. traubii</i>	<i>L. guangxiensis</i>	<i>L. longituba</i>	<i>L. squamigera</i>	<i>L. caldwelii</i>	<i>L. sprengeri</i>	<i>L. chinensis</i>
69 11 β -hydroxygalanthamin							50				
70 epigalanthamin								48			
71 epilykoramin											54
72 galanthamin	64, 56, 67, 65, 48	32	45, 46, 47, 48	16	49	15	50, 51	52, 48		55	53, 54
73 galanthamin- <i>N</i> -oxid	56, 67			16							
74 lykoramin	56, 67, 65, 48	32	46, 48	16	49	15	51	52, 48		55	53, 54
75 lykoramin- <i>N</i> -oxid	56, 67	32									
76 <i>N</i> -(chloromethyl)galanthamin			47				50				
77 <i>N</i> -allylnorgalanthamin						15					
78 narwedín						15					
79 <i>N</i> -demethylgalanthamin			45, 46, 47			15	50	52			
80 <i>N</i> -demethyllykoramin	65		46								
81 <i>O</i> -demethylgalanthamin	8, 56		45, 46	16			50	52			
82 <i>O</i> -demethyllykoramin	56, 67, 65, 8		45, 46	16			50	52			

	<i>L. radiata</i>	<i>L. albiflora</i>	<i>L. aurea</i>	<i>L. incarnata</i>	<i>L. traubii</i>	<i>L. guangxiensis</i>	<i>L. longituba</i>	<i>L. squamigera</i>	<i>L. caldwelii</i>	<i>L. sprengeri</i>	<i>L. chinensis</i>
83 <i>O</i> -demethyllykoramin- <i>N</i> -oxid	56										
Pankratistatinový typ											
84 5,6-dihydro-5-methyl-1,2-dihydroxyfenanthridin			63								
85 5,6-dihydro-5-methyl-2-hydroxyfenanthridin	6										
86 5,6-dihydrobikolorin	64							52		55	
87 7- <i>O</i> -methyllykoricidinol		32									
88 bikolorin	8										
89 krinasiadin										55	
90 lykoricidin	64	32						52			
91 narciklasin	56, 65	32					68	52			54
92 <i>N</i> -methylkrinasiadin							50				
93 trisferidin	8						50			55	
Tazettinový typ											
94 3- <i>O</i> -ethyltazettinol			70								
95 6- <i>O</i> -methylpretazettin								52			
96 deoxytazettin							50				
97 squamigerin								48			
98 tazettin	67, 48		46, 48				50, 51	52, 48		55	

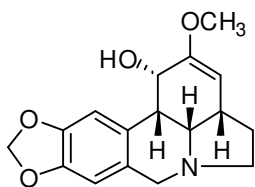
	<i>L. radiata</i>	<i>L. albiflora</i>	<i>L. aurea</i>	<i>L. incarnata</i>	<i>L. traubii</i>	<i>L. guangxiensis</i>	<i>L. longituba</i>	<i>L. squamigera</i>	<i>L. caldwelii</i>	<i>L. sprengeri</i>	<i>L. chinensis</i>
Montaninový typ											
99 3- <i>O</i> -methylpankracin	56										
100 lykolongirin C							50				
101 montabufin										55	
102 montanin								52			
103 pankracin	56						68				
104 pankratinin C	56, 64						68	52			
Harmanový typ											
105 harman							50				
106 lykolongirin A							50				
107 norharman							50				
108 perlolyrin							50				
Belladinový typ											
109 2(<i>R</i>)-hydroxy- <i>O,N</i> -dimethylnorbelladin								52			
Galasinový typ											
110 8-demethoxyhostasin	65										
Alkaloidy jiných strukturních typů											
111 10- <i>O</i> -methylhernovin- <i>N</i> -oxid									69		
112 <i>N</i> -methoxykarbonyl-lindkarpin									69		
113 <i>N</i> -methoxykarbonyl-nandigerin									69		

	<i>L. radiata</i>	<i>L. albiflora</i>	<i>L. aurea</i>	<i>L. incarnata</i>	<i>L. traubii</i>	<i>L. guangxiensis</i>	<i>L. longituba</i>	<i>L. squamigera</i>	<i>L. caldwelii</i>	<i>L. sprengeri</i>	<i>L. chinensis</i>
114 2-demethyl-isokorydion			63								
115 8-demethyl-dehydrokrebanin			63								
116 hostasinin A		32									
117 isokorydion			63								
118 lykolongirin B							50				

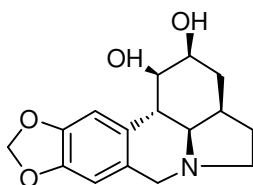
* čísla v tabulce udávají čísla literárních zdrojů

5. Přehled vzorců alkaloidů izolovaných z rostlin rodu *Lycoris*

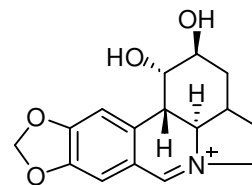
5.1. Alkaloidy lykorinového strukturního typu



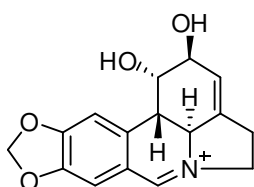
1 armabellisin



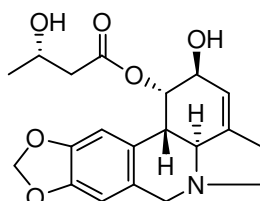
2 epi-zephyranthin



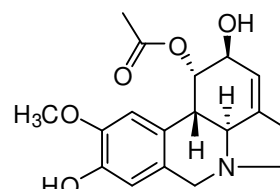
5 5,6-dehydrodihydrolykorin



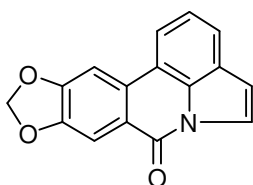
6 5,6-dehydrolykorin



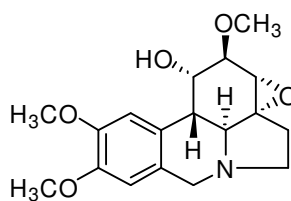
8 1-O-(3'S)-hydroxybutanoyllykorin



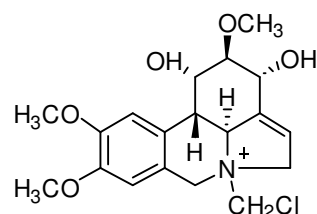
11 16-epipluviin



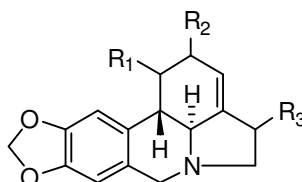
15 hippadin



17 inkartin



23 N-(chloromethyl)narcissidinium
chlorid

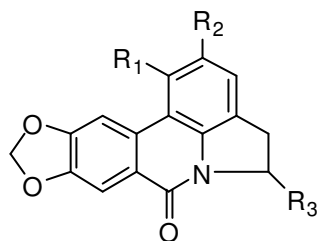


$R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{OH}$, $R_3 = \text{OCH}_3$ **9** 4-O-methyllykorin

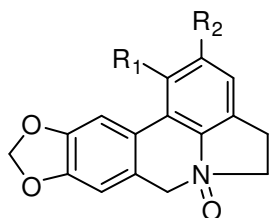
$R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{OCH}_3$, $R_3 = \text{H}$ **16** hippamin

$R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{H}$ **18** karanin

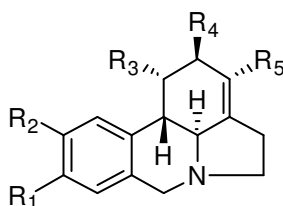
$R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{OH}$, $R_3 = \text{H}$ **21** lykorin



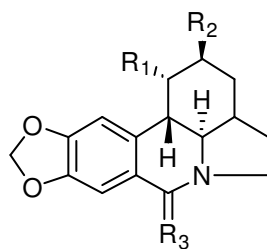
- $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$ **7** 1-hydroxy-anhydrolykorin-7-on
 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{H}$ **12** anhydrolykorin-7-on
 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{H}$ **19** lykoranin A
 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{CH}_3$ **20** lykoranin B



- $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}$ **3** 1,2-dihydroxy-anhydrolykorin- *N*-oxid
 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}$ **4** 3-hydroxy-anhydrolykorin- *N*-oxid

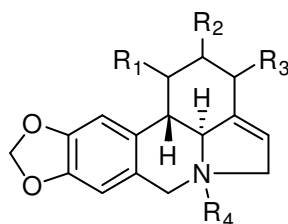


- $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{OCH}_3, R_5 = \text{H}$ **14** galanthin
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{OCH}_3, R_5 = \text{OH}$ **24** narcissidin
 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{H}, R_5 = \text{H}$ **26** norpluviin
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{H}, R_5 = \text{H}$ **27** pluviin
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{OH}, R_5 = \text{H}$ **28** pseudolykorin
 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OCOCH}_3, R_4 = \text{OH}, R_5 = \text{H}$ **29** sternbergin



$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{O}$ **10** 7-oxodihydrolykorin

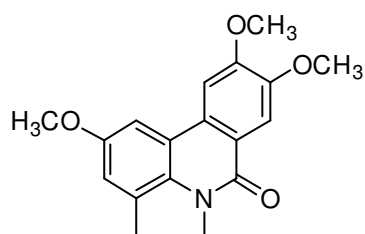
$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$ **13** dihydrolykorin



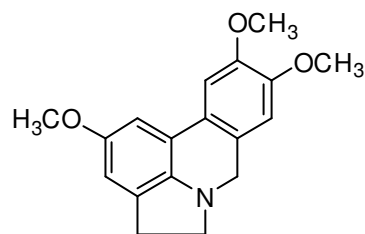
$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{CH}_2\text{Cl}$ **25** N-chloromethylungiminorin

$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{H}$ **31** ungiminorin

$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OH}, R_4 = \text{O}$ **32** ungiminorin-N-oxid



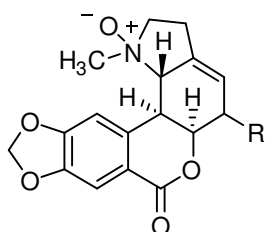
22 lykosprenin



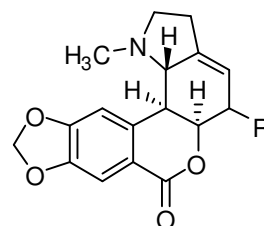
30 tortuosin

Obr. 14 Struktury alkaloidů lykorinového typu

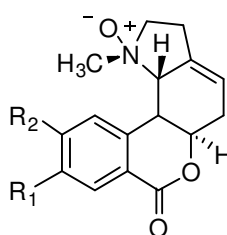
5.2. Alkaloidy homolykorinového strukturního typu



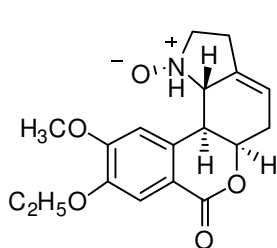
R = H **33** 8,9-methylendioxyhomolykorin-*N*-oxid
 R = OH **43** hippeastrin-*N*-oxid



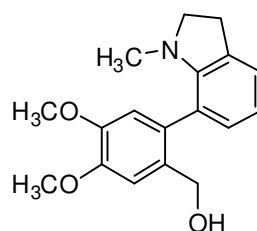
R = OH **42** hippeastrin
 R = OCH₃ **54** ungerin



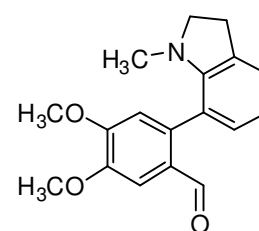
R₁ = OH, R₂ = OCH₃ **34** 8-hydroxy-homolykorin-*N*-oxid
 R₁ = OCH₃, R₂ = OCH₃ **45** homolykorin-*N*-oxid



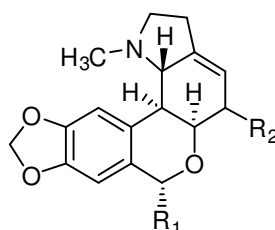
35 8-*O*-acetylhomolykorin-*N*-oxid



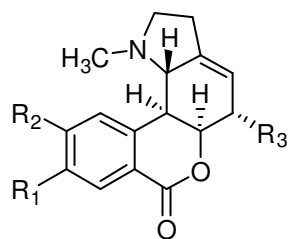
47 lykosinin A



48 lykosinin B



R₁ = OCH₃, R₂ = OH **36** 2-hydroxy-6-*O*-methylodulin
 R₁ = O(CH₂)₃CH₃, R₂ = OH **37** 2-hydroxy-6-*O*-*n*-butylodulin
 R₁ = OCH₂CH₃, R₂ = OCH₃ **38** 2-methoxy-6-*O*-ethylodulin
 R₁ = OH, R₂ = OH **53** radiatin

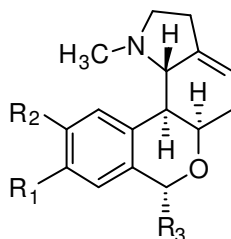


$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{OH}$ **39** 5-hydroxy-10-*O*-demethylhomolykorin

$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{OH}$ **40** 9-*O*-demethyl-2-hydroxyhomolykorin

$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{H}$ **41** 9-*O*-demethylhomolykorin

$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{H}$ **44** homolykorin

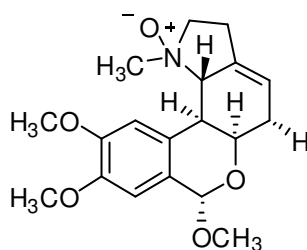


$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OH}$ **46** lykorenin

$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OCH}_2\text{CH}_3$ **49** *O*-ethyllykorenin

$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OCH}_3$ **50** *O*-methyllykorenin

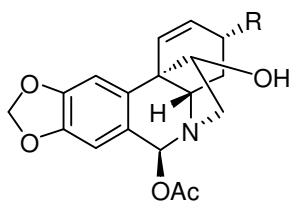
$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ **52** *O*-*n*-butyllykorenin



51 *O*-methyllykorenin-*N*-oxid

Obr. 15 Struktury alkaloidů homolykorinového typu

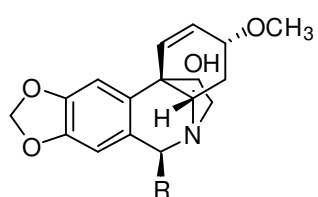
5.3. Alkaloidy krininového strukturního typu



R = OAc **55** 3,6-diacetylbulbispermin

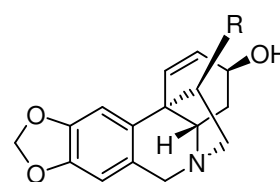
R = OH **56** 3-hydroxy-6-acetylbulbispermin

R = OCH₃ **57** 3-methoxy-6-acetylbulbispermin



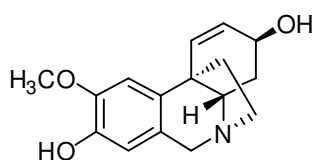
R = OC₂H₅ **58** 6-acetoxycrinamin

R = OH **59** 6-hydroxycrinamin

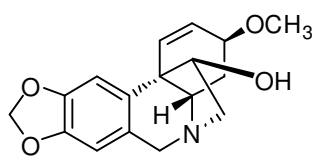


R = OH **61** 11-hydroxyvittatin

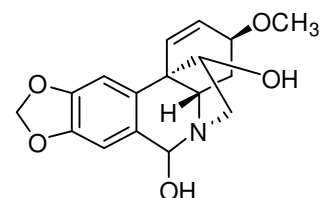
R = H **67** vittatine



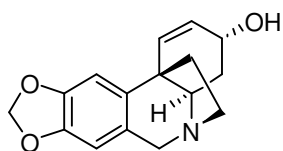
60 8-*O*-demethylmaritidin



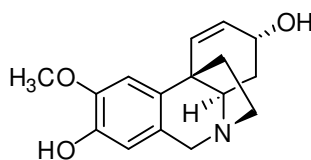
62 haemanthamin



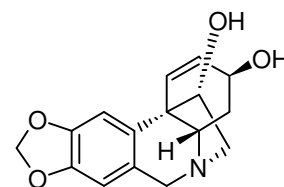
63 haemanthidin



64 krinin



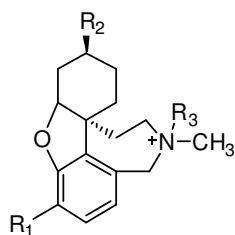
65 makowin



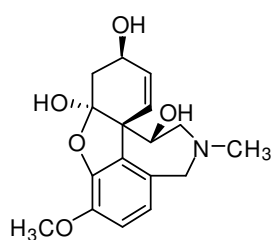
66 *O*-demethylhaemanthamin

Obr. 16 Struktury alkaloidů krininového typu

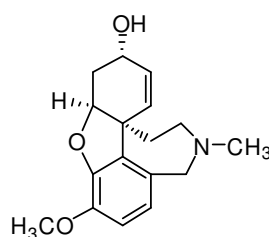
5.4. Alkaloidy galanthaminového strukturního typu



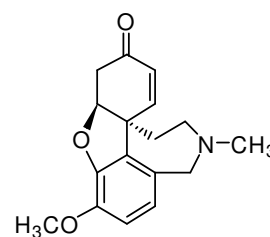
- $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{CH}_2\text{Cl}$ **68** *N*-(chloromethyl)lykoramin
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{O}$ **75** lykoramin-*N*-oxid
 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{O}$ **83** *O*-demethyllykoramin-*N*-oxid



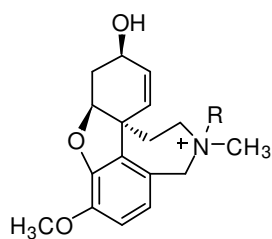
69 11-hydroxygalanthamin



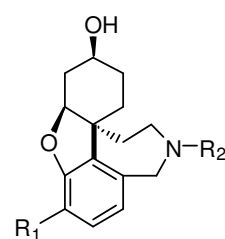
70 epigalanthamin



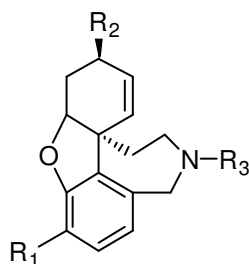
78 narwedine



- $R = \text{O}$ **73** galanthamin-*N*-oxid
 $R = \text{CH}_2\text{Cl}$ **76** *N*-(chloromethyl)galanthamin



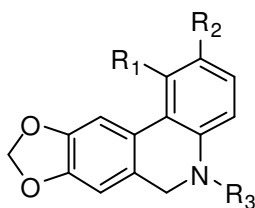
- $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{CH}_3$ **74** lykoramin
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{H}$ **80** *N*-demethyllykoramin
 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{CH}_3$ **82** *O*-demethyllykoramin



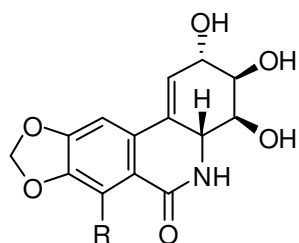
$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{CH}_3$	72 galanthamin
$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{CH}_2\text{CHCH}_2$	77 <i>N</i> -allylnorgalanthamin
$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$	79 <i>N</i> -demethylgalanthamin
$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{CH}_3$	81 <i>O</i> -demethylgalanthamin

Obr. 17 Struktury alkaloidů galanthaminového typu

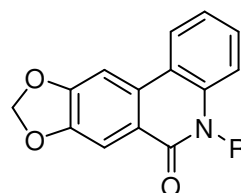
5.5. Alkaloidy pankratistatinového strukturního typu



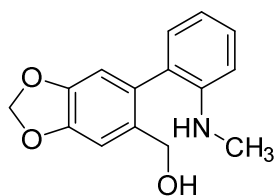
$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{CH}_3$	84 5,6-dihydro-5-methyl-1,2-dihydroxyfenanthridin
$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{CH}_3$	85 5,6-dihydro-5-methyl-2-hydroxyfenanthridin
$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}, R_3 = \text{H}$	93 trisferidin



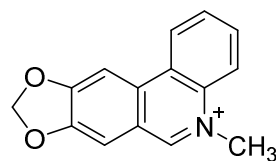
$R = \text{H}$	89 krinasiadin
$R = \text{OCH}_3$	90 lykoricidin
$R = \text{OH}$	91 narciklasin



$R = \text{H}$	88 bikolorin
$R = \text{CH}_3$	92 <i>N</i> -methylkrinasiadin



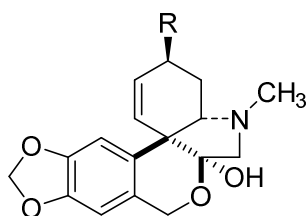
86 5,6-dihydrobikolorin



87 7-*O*-methyllykoricidinol

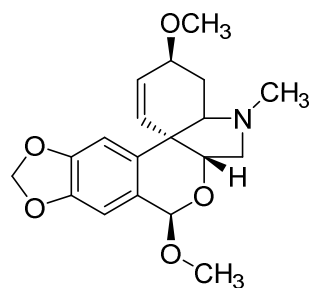
Obr. 18 Struktury alkaloidů pankratistatinového typu

5.6. Alkaloidy tazettinového strukturního typu

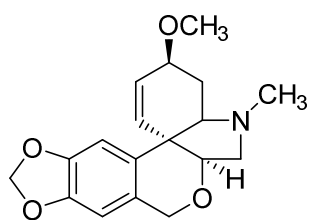


R = OCH₂CH₃ **94** 3-*O*-ethyltazettinol

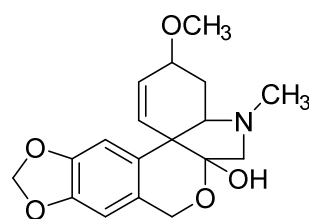
R = OCH₃ **98** tazettin



95 6-*O*-methylpretazettin



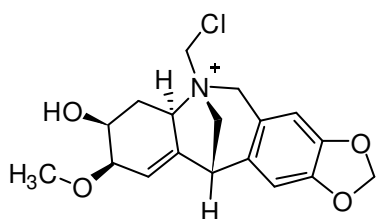
96 deoxytazettin



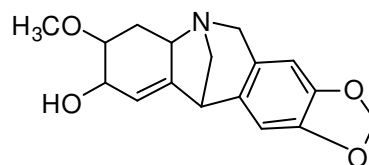
97 squamigerin

Obr. 19 Struktury alkaloidů tazettinového typu

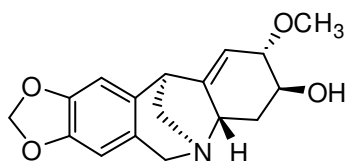
5.7. Alkaloidy montaninového strukturného typu



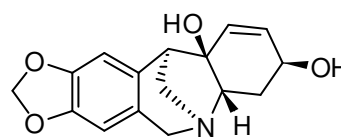
100 lykolongirin C



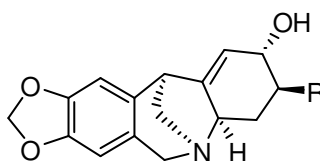
101 montabufin



102 montanin



104 pankratinin C

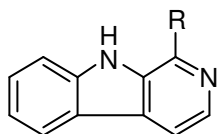


R = OCH₃ **99** 3-*O*-methylpankracin

R = OH **103** pankracin

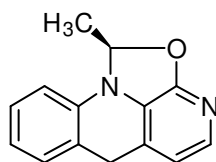
Obr. 20 Struktury alkaloidů montaninového typu

5.8. Alkaloidy harmanového strukturného typu

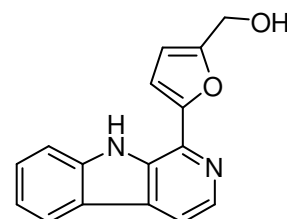


R = CH₃ **105** harman

R = H **107** norharman



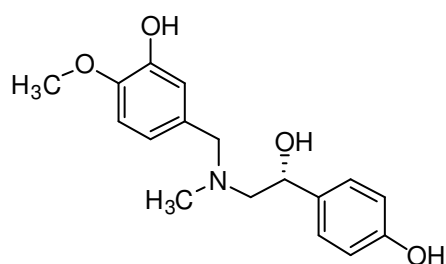
106 lykolongirin A



108 perlolyrin

Obr. 21 Struktury alkaloidů harmanového typu

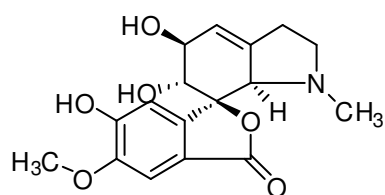
5.9. Alkaloidy belladinového strukturního typu



109 2(*R*)-hydroxy-*N,N*-dimethylnorbeldin

Obr. 22 Struktury alkaloidů belladinového typu

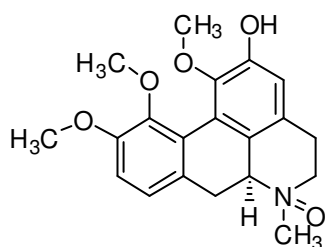
5.10. Alkaloidy galasinového strukturního typu



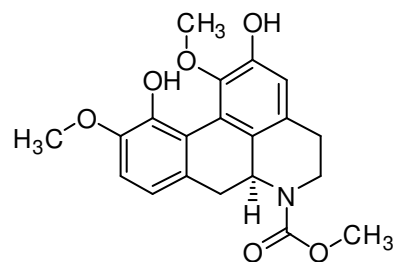
110 8-demethoxyhostasin

Obr. 23 Struktury alkaloidů galasinového typu

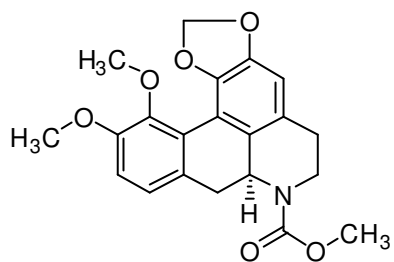
5.11. Alkaloidy jiných strukturních typů



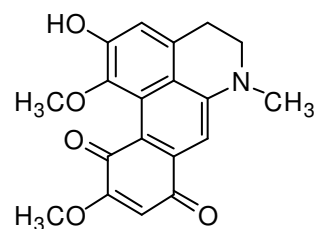
111 10-*O*-methylhernovin-*N*-oxid



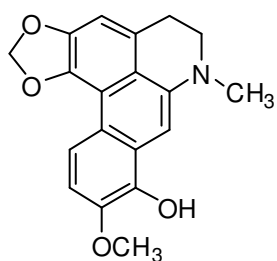
112 *N*-methoxykarbonyl-lindkarpin



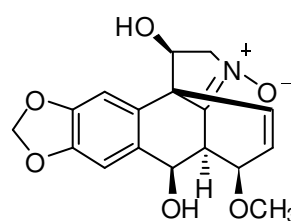
113 *N*-methoxykarbonyl-nandigerin



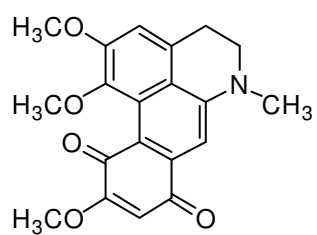
114 2-demethyl-isokorydion



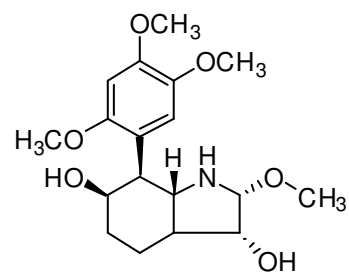
115 8-demethyl-dehydrokrebanin



116 hostasinin A



117 isokorydion



118 lykolongirin B

Obr. 24 Struktury alkaloidů jiných strukturních typů

6. Biologická aktivita

6.1. Protinádorová aktivita

Významnou biologickou aktivitou alkaloidů rostlin čeledi *Amaryllidaceae* je jejich protinádorová aktivita. V rámci čeledi byla u mnoha izolovaných alkaloidů prokázána jejich cytotoxicita na různých buněčných liniích nádorových buněk. Tento trend lze pozorovat i u alkaloidů izolovaných z rostlin rodu *Lycoris*. Dříve než se budeme zabývat vlastním protinádorovým účinkem alkaloidů rostlin rodu *Lycoris*, je třeba si stručně tuto skupinu chorob charakterizovat a popsat jejich základní molekulárně-genetickou podstatu.

6.1.1. Charakteristika onemocnění

Nádorová onemocnění jsou jednou z nejčastějších příčin morbidity a mortality lidí jak v České republice, tak ve světě obecně. Jedná se o velkou skupinu chorob, při kterých dochází k nekontrolovatelnému dělení některých buněk vlastního těla. Tyto buňky se vymykají kontrolním mechanismům buněčného dělení. Buněčné dělení je přísně regulovaný proces řízený mnoha faktory přicházejícími jak z buněk samých, tak především z jejich okolí. Za fyziologických podmínek odpovídá buněčné dělení potřebám organismu. Při nádorovém bujení přestávají buňky na signály ze svého okolí reagovat a nekontrolovatelně se dělí, čímž vzniká novotvar – nádor.

Příčin nádorového bujení je celá řada. Na jejich vzniku se mohou podílet jak vnější vlivy, především vlivy fyzikální a chemické, tak vnitřní vlivy zahrnující především genetické predispozice, hormonální nerovnováhu a životní styl.

Ačkoliv jsou nádorová onemocnění častější u lidí ve vyšším věku, výjimkou nejsou ani u dětí. Pro terapii máme k dispozici mnoho léčebných možností včetně chemoterapie, ozařování a chirurgických zákroků. U některých metastazujících nádorů však ani tyto léčebné možnosti nemusejí být dostačující. Vzhledem k tomu, že nádory jsou vlastně seskupením buněk, které jsou tělu vlastní, je velice náročné cílit léčbu pouze na tyto buňky nádoru bez poškození jiných buněk těla. Při hledání nových protinádorových léčiv je žádoucí, aby látka působila co možná nejselektivněji na buňky nádoru. Právě tato vlastnost již byla prokázána u některých alkaloidů izolovaných

z rostlin čeledi *Amaryllidaceae*. Tyto látky představují možný zdroj nových léčiv proti rakovině.

6.1.2. Buněčný cyklus, apoptóza a vznik nádorových buněk

Buněčný cyklus je přísně regulovaný proces, při kterém dochází ke vzniku nových buněk, které postupně rostou, prolifерují a následně se opět dělí za vzniku buněk dceřinných. Obecně lze buněčný cyklus rozdělit do čtyř základních fází - M, G1, S, G2. Fáze M představuje vlastní buněčné dělení, kdy se jedna buňka mateřská rozdělí na dvě buňky dceřinné se stejnou genetickou výbavou. Zahrnuje mitozu a cytokinezi. S-fáze je fází "syntetickou". Dochází při ní k replikaci DNA. Během fáze G1 buňka roste a připravuje se na replikaci DNA v následné S-fázi. Obdobně je tomu v G2-fázi, kdy se buňka připravuje pro vstup do mitózy. Fáze G1 a G2 jsou však významné zejména proto, že se v nich nachází hlavní kontrolní body systému regulace buněčného dělení.²³⁻²⁴

Každé buněčné dělení je regulováno tak, aby se daná buňka v organismu dělila pouze v čas potřeby po stimulaci chemickými signály ze svého okolí.²³⁻²⁴ Systém regulace buněčného cyklu je pro pochopení vzniku nádorových buněk klíčový. Hlavní princip řízení buněčného cyklu spočívá ve fosforylaci proteinů, které iniciují nebo regulují replikaci DNA, mitozu nebo cytokinezi. Aktivita těchto proteinů se mění fosforylací. V průběhu buněčného cyklu jsou postupně aktivovány a deaktivovány určité proteiny ze skupiny proteinkináz. Tyto proteinkinázy jsou v buňce přítomny po celou dobu buněčného cyklu, ale aktivní jsou vždy pouze v jeho určité fázi. To, kdy bude daná proteinkináza aktivována, závisí na koncentraci cyklinů. Cykliny nemají vlastní enzymatickou aktivitu. Jejich funkce spočívá ve vazbě na proteinkinázy buněčného cyklu. Tím jsou tyto kinázy aktivovány. Koncentrace cyklinů se v průběhu buněčného cyklu cyklicky mění a právě tím je dosaženo toho, že každá proteinkináza je aktivní pouze v určité fázi buněčného cyklu. Vzhledem k tomu, že aktivita těchto kináz závisí na koncentraci cyklinů, označují se jako cyklin-dependentní kinázy (CDK).²³⁻²⁴

Dalším článkem regulačního systému buněčného cyklu jsou CDK-inhibiční proteiny. Tyto látky zabraňují tvorbě komplexů cyklin-CDK nebo blokují aktivitu již vzniklých komplexů. Regulace koncentrace cyklinů je velice důležitá pro správné načasování fází buněčného cyklu.²³⁻²⁴ Jednou z nejvýznamnějších látek této skupiny je genový regulační protein p53, který ovlivňuje expresi CDK-inhibičního proteinu

p21.²³⁻²⁵ Je-li transkripční faktor p53 aktivován, stimuluje transkripci genu kódujícího protein p21. Protein p21 se váže na komplexy cyklinu E s kinázou CDK2 (E-CDK2) a cyklinu D a kinázy CDK4 (D-CDK4) a ruší jejich účinky. E-CDK2 a D-CDK4 jsou komplexy zodpovědné za přechod buňky z G1-fáze do S-fáze buněčného cyklu. Vlivem proteinu p21 se tedy buněčný cyklus zastavuje v G1-fázi.²³⁻²⁵ Tento postup je žádoucí v případě, že buňka potřebuje získat čas na případnou opravu DNA. Jedná se vlastně o mechanismus, který zajišťuje, že DNA bude před vstupem do S-fáze v pořádku a během replikace se nebudou do dceřiných buněk přenášet poškozené geny.

Transkripční faktor p53 svým působením vede k útlumu buněčného dělení. Pokud je z nějakého důvodu aktivita p53 nedostatečná, buňka vstupuje do S-fáze i s případnými defekty v DNA a dochází ke vzniku genetických mutací, jež jsou předpokladem vzniku nádorového bujení.²³⁻²⁵

Významným faktorem, který tlumí buněčný růst, je retinoblastomový protein (Rb). Rb se váže na transkripční faktory E2F a DP1 a tím je inaktivuje. Funkce tohoto proteinu úzce souvisí s koncentrací komplexů E-CDK2 a D-CDK4. Tyto komplexy udržují Rb inaktivní, čímž podporují buněčné dělení.^{23,25}

Výše diskutované úrovně regulace buněčného dělení, do kterých svými účinky zasahují právě amarylkovité alkaloidy, vedou ke kaskádě dějů směřujících k apoptóze. Apoptóza, nebo-li programovaná buněčná smrt, je způsob, kterým jsou v organismu nahrazovány staré nebo nepotřebné buňky. Obdobně jako buněčné dělení je apoptóza regulovaným procesem odpovídajícím potřebám organismu.

Dostane-li buňka ze svého okolí podnět, spouští se signalizační kaskáda, jejímž prvním článkem je kaspáza 8, která aktivuje enzym sfingomyelinázu. Aktivovaná sfingomyelináza katalyzuje štěpení sfingomyelinu, jednoho ze strukturních fosfolipidů buněčných membrán. Ze sfingomyelinu se odštěpuje ceramid, který má funkci signální molekuly ovlivňující proliferaci, diferenciaci a apoptózu. Takto začíná apoptóza tzv. vnější dráhou. Vnitřní dráha aktivace souvisí s mitochondriemi. Začleněním proteinů Bak nebo Bax do vnější mitochondriální membrány dochází k depolarizaci mitochondrie a uvolnění cytochromu C do cytosolu, kde se váže na protein APAF-1. Komplex cytochromu C a proteinu APAF-1 vede k aktivaci kaspázy 9, která vede dále k aktivaci kaspázy 3. Aktivovaná kaspáza 3 způsobuje aktivaci endonukleázy, což je enzym katalyzující štěpení molekuly DNA uvnitř její nukleotidové sekvence.²⁵

K nádorovému bujení buněk dochází v případě, že je poškozen některý z regulačních mechanismů buněčného cyklu a apoptózy. Absence tlumivého účinku retinoblastomového proteinu na buněčné dělení, inaktivita proteinu p53 či dalších regulačních složek způsobuje, že se buňka začne nekontrolovatelně dělit. Příčiny nefunkčnosti kontrolních mechanismů lze spatřovat v mutacích genetické informace. Mutací genů kódujících proteiny regulačních systémů buněčného cyklu a apoptózy jsou tyto systémy narušeny. Při rakovině dochází k defektům dvou skupin genů. První skupina představuje geny kódující proteiny, které za normálních okolností napomáhají buněčnému dělení. Druhá skupina genů kóduje proteiny, které naopak buněčné dělení potlačují. Nádorové bujení je výsledkem přílišné aktivity genů kódujících proteiny, které podporují proliferaci nebo sníženou aktivitou genů kódujících proteiny s tlumivým účinkem²³. V obou případech je výsledkem mutací nádorová transformace buněk.

Mezi klíčové kroky, do kterých svými účinky zasahují alkaloidy rostlin rodu *Lycoris*, jsou depolarizace mitochondrie, aktivace kaspáz 8, 9 a 3 a ovlivnění genové exprese proteinů ovlivňujících buněčné dělení a apoptózu (viz dále).

6.1.3. Protinádorová aktivita alkaloidů rostlin rodu *Lycoris*

6.1.3.1. Lykorinový strukturní typ

Hlavním zástupcem alkaloidů lykorinového strukturního typu je lykorin. Tato látka patří mezi nejvíce prostudované alkaloidy amarylkovitých rostlin. U lykorinu již byla prokázána celá řada biologických účinků včetně protinádorové aktivity. Podle Tab. 1 vidíme, že se lykorin vyskytuje i ve většině druhů rostlin rodu *Lycoris* a proto tyto druhy můžeme považovat za další potenciální zdroje tohoto alkaloidu.

Ačkoliv má lykorin celou řadu biologických účinků, jeho protinádorová aktivita se zatím jeví jako nejvýznamnější. Studie, které byly do dnešní doby provedeny, vedly ke zjištění, že lykorin indukuje apoptózu tzv. vnitřní mitochondriální cestou. U buněk vystavených působení lykorinu dochází k výraznému snížení exprese genů proteinů Mcl-1, cyklinu D1 a CDK4.^{26 - 27} Protein Mcl-1 patří do skupiny proteinů Bcl-2, které hrají významnou roli v kontrole apoptózy regulací uvolňování cytochromu C z mitochondrií.^{25, 28} Mcl-1 je z podskupiny antiapoptotických proteinů, které mají

stabilizační vliv na vnější mitochondriální membránu, čímž znesnadňují uvolňování cytochromu C z mitochondrií do cytosolu buněk.²⁶ Působením lykorinu je tento protektivní účinek proteinu Mcl-1 snížen. Cytochrom C se tak dostává do cytosolu, kde napomáhá aktivaci kaspázové kaskády, která vede k apoptóze.²⁶ Snížením exprese cyklin-dependentní proteinkinázy CDK4 je ovlivněn přechod buňky z G1-fáze do S-fáze buněčného cyklu.²⁷

Při studiu protinádorových účinků lykorinu proti buňkám myeloidní leukemie linie HL-60 v roce 2004 bylo zaznamenáno významné zvýšení aktivity kaspáz 3, 8 a 9 a dále snížená exprese proteinů Bcl-2 v nádorových buňkách vystavených působení lykorinu.²⁹ Tyto poznatky byly dále doplněny informacemi získanými při testování účinků lykorinu na buněčných liniích leukemie K562, U937 a HL-60 (Tab. 4) v roce 2009, kdy bylo prokázáno, že lykorin indukuje apoptózu vnitřní mitochondriální cestou „down“ regulací Mcl-1 proteinu v nádorových buňkách²⁶. Při sledování změn, které v buňkách nastaly po 24hodinovém působení lykorinu v koncentraci 1M, však u žádné z testovaných buněčných linií nebyly pozorovány žádné zaznamatelné změny v hladinách mRNA. To vedlo autory studie k předpokladu, že lykorin snižuje hladiny Mcl-1 proteinu jiným způsobem než ovlivněním transkripce. Výsledky studie byly potvrzeny při testování účinku lykorinu na humánních leukemických buňkách. Buňky byly odebrány pacientovi a inkubovány po dobu 24 hodin s lykorinem. Léčba lykorinem v koncentraci 10 μ M vedla k apoptóze 50,3 % buněk vzorku.²⁶

Výše popsané molekulární mechanismy se na buněčné úrovni projevují ovlivněním buněčného cyklu. Několik studií potvrdilo zástavu buněčného cyklu u nádorových buněk vystavených účinku lykorinu. U buněk linie HL-60 docházelo k zástavě buněčného cyklu ve fázi G2/M²⁹, v případě linie KM-3 byla zástava buněčného cyklu zaznamenána ve fázi G0/G1³⁰.

Protinádorová aktivita lykorinu byla prokázána již na mnoha liniích nádorových buněk a to jak v podmínkách *in vitro*, tak také v podmínkách *in vivo*. *In vitro* byla prokázána protinádorová aktivita lykorinu na HeLa buňkách a u nádorových buněk linií CEM, K562, MCF-7, G-361, HL-60 a KM-3, *in vivo* u buněk myšního melanomu B16F10, Lewisova plicního karcinomu a na buňkách myeloidní leukemie linie HL-60 (Tab. 4)^{3, 26-27, 29-31}.

V roce 2010 byly poznatky o protinádorových účincích lykorinu dále rozšířeny o informaci, že lykorin vykazuje výraznou cytotoxickou aktivitu u nádorových buněk, které jsou jinak rezistentní vůči apoptóze.³¹ Význam tohoto zjištění spočívá v možnosti

potenciálního uplatnění lykorinu a jeho derivátů v léčbě nádorových metastáz, pro které je rezistence vůči apoptóze charakteristická.

Z alkaloidů lykorinového strukturního typu izolovaných z rostlin rodu *Lycoris* byl dále potvrzen výrazný protinádorový účinek u 5,6-dehydrolykorinu. Tento alkaloid byl izolován z cibulí druhu *Lycoris radiata*²⁰ v poměrně nedávné době a při testování jeho biologické aktivity bylo hned dosaženo velmi pozitivních výsledků. U této látky byl prokázán významný cytotoxický účinek při testování na nádorových buňkách linií HL-60, CCF-STTG1, CHG-5, SHG-44, U251, SMMC-7721, W480 (Tab. 4) s hodnotami IC_{50} v rozmezí $9,4 \pm 1,3 \mu\text{M}$ až $11,8 \pm 0,7 \mu\text{M}$ ⁶ (Tab. 2). 5,6-dehydrolykorin tedy působí cytotoxicky již v mikromolárních koncentracích, což je účinkem srovnatelné s lykorinem. Například u linie HL-60 byly naměřené hodnoty IC_{50} 5,6-dehydrolykorinu $10,8 \pm 1,6 \mu\text{M}$ ⁶ a lykorinu $1,10 \pm 0,11 \mu\text{M}$ ³².

6.1.3.2. Krininový strukturní typ

Z alkaloidů krininového strukturního typu byla v dřívějších studiích prokázána potenciální cytotoxická aktivita alkaloidů haemanthaminu a haemanthidinu. Oba alkaloidy byly izolovány i z rostlin rodu *Lycoris* (Tab. 1).

V roce 2010 byla protinádorová aktivita haemanthaminu a haemanthidinu prokázána při testování na nádorových buněčných liniích A549, OE21, Hs683, U373, SKMEL a B16F10 (Tab. 4) s hodnotami IC_{50} $4,5 \pm 0,6$ až $8,5 \pm 0,2 \mu\text{M}$ u haemanthaminu a $3,1 \pm 0,2$ až $4,3 \pm 0,2 \mu\text{M}$ u haemanthidinu³³. Haemanthidin v této studii vykazoval dokonce výraznější protinádorový účinek než lykorin. Hodnoty IC_{50} haemanthidinu byly nižší než hodnoty IC_{50} lykorinu na všech testovaných liniích nádorových buněk. Významné je především prokázání protinádorového účinku obou alkaloidů u nádorových buněk linií A549, U373, OE21 a SKMEL, protože se jedná o linie rezistentní vůči apoptóze³³.

V roce 2011 byly alkaloidy haemanthamin a haemanthidin testovány na liniích nádorových buněk HL-60 a HSC-2 společně s dalšími alkaloidy izolovanými z hlíz druhu *Lycoris albiflora*.³² Jak ukazuje Tab. 3, obě látky působily cytotoxicky na nádorové buňky linie HL-60 v již mikromolárních množstvích s hodnotami IC_{50} $1,60 \pm 0,06 \mu\text{M}$ pro haemanthamin a $2,00 \pm 0,09 \mu\text{M}$ pro haemanthidin. U linie HSC-2 byla cytotoxická aktivita několikanásobně nižší s hodnotami IC_{50} $28,40 \pm 1,56 \mu\text{M}$ pro haemanthamin a $13,30 \pm 0,14 \mu\text{M}$ pro haemanthidin.

Tabulka 2. Cytotoxická aktivita^a alkaloidů izolovaných z cibulí druhu *Lycoris radiata*^b

Alkaloidy	Linie nádorových buněk							
	BEN-MEN-1	CCF-STTG1	CHG-5	SHG-44	U251	HL-60	SMMC-7721	W480
5,6-dehydrolykorin		10.3 ± 0.9	10.2 ± 10.6	9.4 ± 1.3	11.8 ± 0.7	10.8 ± 1.6	10.5 ± 0.9	11.6 ± 1.1
3α,6β-diacetyl-bulbispermin		27.1 ± 5.1	30.1 ± 4.4	27.1 ± 3.2	17.4 ± 2.1	7.3 ± 1.1	63.2 ± 11.8	51.1 ± 10.9
3α-hydroxy-6β-acetylbulbispermin		29.4 ± 4.1	29.4 ± 5.3	28.3 ± 2.7	15.8 ± 1.7	7.1 ± 0.9	66.8 ± 9.4	53.5 ± 12.4
3α-methoxy-6β-acetylbulbispermin		29.7 ± 5.4	29.6 ± 6.3	29.1 ± 3.8	16.7 ± 2.6	8.6 ± 1.4	68.2 ± 12.3	50.1 ± 7.8
8,9-methylendioxy-l-homolykorin- <i>N</i> -oxid	-	83.2 ± 13.7	-	-	-	-	86.2 ± 17.4	-
homolykorin- <i>N</i> -oxid	-	-	93.0 ± 21.1	-	-	-	85.0 ± 16.2	-
5,6-dihydro-5-methyl-2-hydroxyfenanthridin	-	-	-	-	-	81.3 ± 15.7	-	-
doxorubicin	17.8	24.7	21.8	33.7	28.4		37.6	14.1

^acytotoxická aktivita je vyjádřena jako IC₅₀ v μM (u doxorubicinu v nM)

(-) IC₅₀ > 100 μM

doxorubicin byl použit jako pozitivní kontrola

Tabulka 3. Cytotoxická aktivita^a alkaloidů izolovaných z hlíz druhu *Lycoris albiflora*³²

Alkaloidy	Linie nádorových buněk	
	HL-60	HSC-2
lykoricidinol (narciklasin)	0,018	0,05
7- <i>O</i> -methyllykoricidinol	4,60 ± 0,14	37,50 ± 3,16
lykoricidin	0,15	1,70 ± 0,20
hostasinin A	29,10 ± 1,24	> 55
hemanthamin	1,60 ± 0,06	28,40 ± 1,56
haemathidin	2,00 ± 0,09	13,30 ± 0,14
lykorin	1,10 ± 0,11	5,10 ± 0,09
hippeastrin	13,20 ± 1,17	-
hippeastrin- <i>N</i> -oxid	> 55	-
homolykorin	> 55	-
homolykorin- <i>N</i> -oxid	> 55	-
9- <i>O</i> -demethylhomolykorin	> 55	-
galanthamin	> 55	-
lykoramin	> 55	-
lykoramin- <i>N</i> -oxid	> 55	-

^acytotoxická aktivita je vyjádřena jako IC₅₀ v μM

(-) neměřeno

Protinádorové účinky haemanthaminu a haemanthidinu potvrdila i nedávná studie, při které byla testována aktivita obou alkaloidů na p53-negativní linii nádorových buněk leukemie Jurkat.³⁴ U obou látek byla prokázána schopnost indukce apoptózy závislá na dávce daného alkaloidu. Působením haemanthaminu v koncentracích 5 a 15 μM došlo ke zvýšení procentuálního zastoupení buněk v G1 a G2/M fázi buněčného cyklu. Zároveň se snížilo procentuální zastoupení buněk v S fázi. Haemanthidin v koncentraci 5 μM vyvolal statisticky významné zastavení buněčného cyklu nádorových buněk v G1 a G2/M fázi.³⁴ Při studiu účinků haemanthaminu a haemanthidinu na molekulární úrovni došli autoři studie ke zjištění, že tyto alkaloidy způsobují v nádorových buňkách změny exprese některých proteinů, které ovlivňují apoptózu. Byly zaznamenány zvýšené hladiny proteinu p16^{INK4a}, což je inhibitor cyklín-dependentních kináz 4 a 6. Tyto kinázy se účastní fosforylace retinoblastomového proteinu, který hraje významnou roli v regulaci transkripčních faktorů. Je-li tento protein defosforylován, inhibuje proteiny skupiny E2F, které působí jako aktivátory genů potřebných pro vstup buňky do S fáze buněčného cyklu. Aplikací haemanthaminu a haemanthidinu je tato regulační kaskáda buněčného cyklu zastavena a buňky tak nemohou do S fáze vstupovat. Tato studie je první prací, která popsala účinky haemanthaminu a haemanthidinu na vývojový cyklus nádorových buněk.³⁴

Haemanthamin má schopnost selektivně inhibovat růst nádorových buněk aniž by zároveň poškozoval buňky zdravé. Tato schopnost byla mimo jiné potvrzena v roce 2007, kdy byl haemanthamin testován na nádorových buňkách potkaního hepatocelulárního karcinomu 5123tc.³⁵ Sledovala se schopnost haemanthaminu a dalších alkaloidů selektivně indukovat apoptózu u nádorových buněk 5123tc a zároveň nepůsobit cytotoxicky na linii lidských embryonálních buněk ledvin HEK-293t. Při tomto experimentu vykazoval haemanthamin významnou protinádorovou aktivitu bez současné indukce apoptózy u embryonálních buněk ledvin HEK-293t při stejných koncentracích. Zároveň byla stanovena účinná dávka haemanthaminu potřebná k indukci apoptózy u 50% nádorových buněk na 15 μM .³⁵

Kromě haemanthaminu a haemanthidinu byly z rostlin rodu *Lycoris* izolovány další alkaloidy krininového typu se zajímavou protinádorovou aktivitou. Patří mezi ně také dva nově popsané alkaloidy 3 α ,6 β -diacetyl-bulbispermin a 3 α -hydroxy-6 β -acetylbulbispermin, které byly izolovány až v roce 2013 z cibulí *Lycoris radiata* společně s 3 α -methoxy-6 β -acetylbulbisperminem.⁶ U těchto látek byla testována protinádorová aktivita na několika liniích nádorových buněk. Všechny tři

alkaloidy vykazovaly výrazný cytotoxický účinek u linie nádorových buněk HL-60 a mírný cytotoxický účinek u linií nádorových buněk CCF-STTG1, CHG-5, SHG-44, U251 (Tab. 4).⁶ Hodnoty IC₅₀ a srovnání cytotoxických účinků s alkaloidy lykorinového typu jsou uvedeny v Tab. 2.

6.1.3.3. Pankratistatinový strukturní typ

Alkaloidy pankratistatinového strukturního typu patří spolu s alkaloidy lykorinového a krininového typu mezi nejaktivnější protinádorově účinné látky. V dřívějších studiích prováděných v rámci čeledi *Amaryllidaceae* se jako nejslibnější struktury jeví alkaloidy pankratistatin a narciklasin.

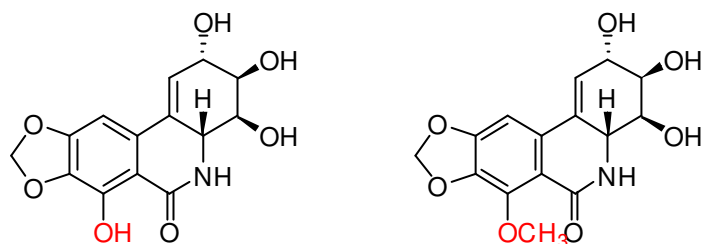
V rámci rodu *Lycoris* byla pozorována potenciální protinádorová aktivita u alkaloidu narciklasinu (lykoricidinol). Jeho cytotoxické účinky byly testovány na nádorových buňkách linií HL-60 a HSC-2 (Tab. 4).³² Při tomto testování byly měřeny protinádorové účinky i jiných alkaloidů izolovaných z druhu *Lycoris albiflora*. Výsledky měření jsou shrnuty v Tab. 3. Porovnáme-li hodnoty IC₅₀ v Tab. 3, vidíme, že narciklasin vykazoval protinádorovou aktivitu v nejnižších koncentracích a byl tedy v této studii také protinádorově nejúčinnější látkou v porovnání s ostatními testovanými alkaloidy. Narciklasin např. účinkoval v asi stokrát nižších koncentracích než tomu bylo u lykorinu.³²

Poměrně výrazná protinádorová aktivita byla zjištěna také u 7-*O*-methylderivátu lykoricidinolu.³² Náhradou hydroxyskupiny v poloze 7 lykoricidinolu však došlo ke snížení cytotoxického účinku o dva až tři řády. Autoři experimentu z toho usuzují, že pro protinádorový účinek molekuly je klíčová právě hydroxyskupina v poloze 7 (Obr. 25).

6.1.3.4. Homolykorinový strukturní typ

Alkaloidy homolykorinového strukturního typu nepatří na rozdíl od výše zmíněných skupin k nejvýznamnějším z pohledu jejich cytotoxické aktivity. Studie protinádorové aktivity, které byly u těchto alkaloidů prováděny dříve, zjistily cytotoxické účinky pouze u několika zástupců. U mnohých látek této skupiny však nebyl zaznamenán žádný potenciální protinádorový účinek. Výraznější protinádorový

účinek byl zaznamenán pouze u hippeastrinu při testování na nádorových buňkách linie HL-60.³²



narciklasin

7-O-methyllykoricidinol

Obr. 25 Strukturní znaky alkaloidů lykoricidinolu (narciklasinu) a 7-O-methyllykoricidinolu s předpokládanou souvislostí k protinádorovému účinku

6.1.4. Shrnutí protinádorové aktivity alkaloidů izolovaných z rostlin rodu *Lycoris*

Současné poznatky o protinádorových účincích alkaloidů rostlin rodu *Lycoris* navazují na informace získané při studiu biologických účinků alkaloidů izolovaných z rostlin jiných rodů čeledi *Amaryllidaceae*. I u rostlin rodu *Lycoris* byly zatím nejvýraznější protinádorové účinky pozorovány u alkaloidů lykorinového strukturního typu s lykorinem jako vedoucí sloučeninou. U této látky již máme i určité poznatky o jejích mechanismech účinku, který spočívá v ovlivnění apoptózy. Protinádorová aktivita byla pozorována i u alkaloidů, které byly v rámci rodu *Lycoris* izolovány poprvé, jmenovitě u 5,6-dehydrolykorinu. Pozornost si zaslouží také alkaloidy krininového strukturního typu haemanthamin, haemanthidin, 3 α -methoxy-6 β -acetylbulbispermin a nově izolované látky 3 α ,6 β -diacetyl-bulbispermin a 3 α -hydroxy-6 β -acetylbulbispermin. Z alkaloidů pankratistatinového strukturního typu byla v rámci rodu *Lycoris* pozorována slibná protinádorová aktivita alkaloidu lykoricidinolu.

Ačkoliv již máme základní poznatky o mechanismech účinku některých jmenovaných alkaloidů, podrobný popis jejich mechanismu účinku nám zatím není znám. Další studie, které se budou zabývat problematikou protinádorových účinků

těchto látek, by se měly zaměřit na hlubší poznání mechanismu účinku alkaloidů, u kterých již byla protinádorová aktivita potvrzena, studium strukturních předpokladů sloučenin souvisejících s jejich protinádorovým účinkem, hledání nových alkaloidů a testování jejich potenciální protinádorové aktivity, testování účinků vybraných alkaloidů v podmínkách *in vivo* a zkoumání schopnosti alkaloidů účinkovat selektivně na nádorové buňky bez negativního dopadu na buňky zdravé.

Tabulka 4. Význam zkratk linií nádorových buněk

A549	karcinom plic
B16F10	myší melanom
BEN-MEN-1	meningeom
CCF-STTG1	astrocytom
CEM	lymfoblastická leukémie
CHG-5	gliom
G-361	melanom
HeLa	adenokarcinom děložního čípku
HL-60	promyelocytární leukémie
Hs683	gliom
HSC-2	dlaždicobuněčný karcinom
K562	myelogenní leukemie
KM-3	mnohočetný myelom
MCF-7	karcinom prsu
OE21	nádor jícnu z dlaždicobuněčného epitelu
SHG-44	gliom
SKMEL	melanom
SMMC-7721	hepatocelulární karcinom
U251	gliom
U373	glioblastom astrocytom
U937	histiocytický lymfom
W480	kolorektální karcinom

6.2. Inhibiční aktivita vůči acetylcholinesteráze a butyrylcholinesteráze

6.2.1. Charakteristika inhibitorů cholinesteras

Inibitory cholinesteras jsou látky, které blokují hydrolytické účinky enzymů, které štěpí estery cholinu na cholin a acylový zbytek příslušné karboxylové kyseliny. Rozdělujeme je do dvou základních skupin. Neselektivní inhibitory cholinesteras blokují se stejnou potencí účinky dvou enzymů, acetylcholinesterasy (AChE) a butyrylcholinesterasy (BuChE). Druhou skupinou jsou selektivní inhibitory acetylcholinesterasy. Acetylcholinesterasa specificky hydrolyzuje esterovou vazbu v molekule acetylcholinu (ACh). Butyrylcholinesterasa nese specificky hydrolyzuje jakýkoliv typ esteru cholinu.³⁶

Obě skupiny inhibitorů cholinesteras mohou být dále rozděleny podle molekulární podstaty účinku na reverzibilní, pseudoreverzibilní a ireverzibilní.³⁶ Mezi reverzibilní inhibitory patří takrin, donepezil a galanthamin. Tyto látky mohou být v aktivním centru enzymu kompetitivně nahrazeny jinými fyziologicky se vyskytujícími ligandy. Pseudoreverzibilní inhibitory jsou v porovnání s přirozeně se vyskytujícími estery cholinu vázány v aktivním místě enzymu pevnější vazbou. Příkladem těchto látek jsou fysostigmin a rivastigmin. Ireverzibilními inhibitory cholinesteras jsou organofosforové sloučeniny odvozené od kyseliny fosforečné. Tyto látky fosforylují hydroxylovou skupinu v aktivním místě enzymu. Fosforylované aktivní centrum cholinesterasy nemůže být fyziologicky hydrolyzováno, čímž se tato vazba stává nevratnou.³⁶⁻³⁷

Inhibitory AChE jsou v dnešní době klíčovou skupinou látek užívaných v terapii Alzheimerovy choroby.

6.2.2. Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba (Alzheimer's disease, AD) je nejčastějším progresivním neurodegenerativním onemocněním s více než 20 miliony případů po celém světě.³⁸ Přesná příčina AD není zatím plně objasněna, existuje však několik hypotéz, které se jí snaží popsat. V souvislosti s využitím amarylkovitých alkaloidů v terapii AD je nejvýznamnější cholinergní hypotéza. Ta předpokládá, že příznaky choroby jsou výsledkem snížené koncentrace ACh v mozku. K redukci hladiny tohoto

neurotransmiteru dochází v důsledku jeho katabolismu prostřednictvím hydrolytického enzymu AChE.³⁹

Další teorií, která se snaží vysvětlit patogenezi AD je amyloidní hypotéza. U pacientů s AD je častým nálezem přítomnost tzv. senilních plaků v mozkové tkáni.²⁵ Tyto plaky vznikají kumulací β -amyloidu a jsou považovány za primární vliv, který řídí patogenezi AD. Další průběh nemoci je dle amyloidní hypotézy důsledkem nerovnováhy mezi produkcí β -amyloidu a jeho clearance.⁴⁰

U pacientů s AD i u dalších neurodegenerativních onemocnění jsou v mozkové tkáni přítomny neurofibrilární pleteně, jejichž hlavní komponentou je tau protein.^{38, 40} Tau protein je dalším předpokládaným biomarkerem souvisejícím s rozvojem příznaků AD.

6.2.2.1. Klinický obraz

AD se projevuje poklesem kognitivních funkcí. Příznaky se začínají projevovat pozvolna a postupem času se prohlubují, případně přibývají nové. Česká alzheimerovská společnost rozlišila deset oblastí, které bývají u pacientů s AD postiženy.⁴¹

Prvním příznakem u lidí trpících AD bývá zpravidla zhoršení krátkodobé paměti. Pacienti zapomínají jména, úkoly, běžné denní úkony. Postupně se pro ně stávají problematické i každodenní činnosti. Pacienti např. zapomenou, že danou činnost již udělali a udělají ji proto znovu (např. si nevzpomínají, že už připravili oběd nebo dali prádlo do pračky).

V dalším stadiu nemoci se začínají projevovat problémy s vyjadřováním a orientací v prostoru a čase. Pacienti se nemohou rozpomenout na správná slova a komunikace se pro ně stává obtížnou. Často si také nedokážou vybavit název svého bydliště, své jméno nebo nevědí, jaký je den. V této fázi nemoci již přestává být člověk samostatný a je odkázán na péči jiné osoby. Nezřídka se totiž stává, že takový pacient zabloudí v okolí svého bydliště a neví, jak se má dostat domů.

Dalšími oblastmi, které bývají u pacientů s AD postiženy jsou problémy s abstraktním myšlením, ovlivnění racionálního úsudku, změny nálad a změny chování, ztráta iniciativy a následně až změny osobnosti.⁴¹

6.2.2.2. Inhibitory cholinesteras v léčbě Alzheimerovy choroby

První použití inhibitorů AChE se datuje do roku 1979, kdy Peters a Levin studovali účinnost fysostigminu v klinické praxi.³⁶ Studie však neprokázaly příznivý poměr přínosů a rizik při použití fysostigminu a některých dalších látek u pacientů s AD. Látky vykazovaly nízkou selektivitu k AChE a špatný prostup přes hematoencefalickou bariéru. Inhibice AChE byla velmi limitována. Tyto práce však byly klíčové pro úspěšný vývoj nové generace inhibitorů AChE s lepšími farmakokinetickými a farmakodynamickými vlastnostmi.³⁶

V Evropě jsou pro léčbu AD schváleny inhibitory AChE donepezil, rivastigmin a galanthamin.³⁶ Dříve schválený takrin se již nepoužívá z důvodu prokázané hepatotoxické aktivity. Ačkoliv je klinicky významná odpověď na léčbu pomocí těchto látek zaznamenána pouze u méně než poloviny pacientů, kteří léčbu podstoupili, existují důkazy o tom, že dlouhodobá terapie vede k oddálení či snížení potřeby ošetrovatelské péče u pacientů s AD a může dokonce snížit mortalitu.³⁶ Jedná se o jediné látky s prokázaným účinkem při léčbě pacientů s mírným až mírně pokročilým stadiem AD.⁴²⁻⁴³

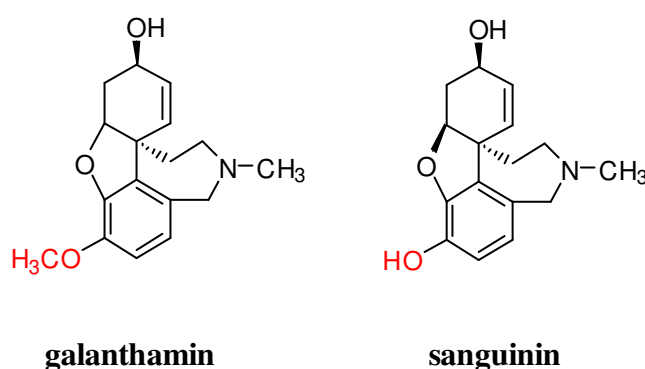
6.2.3. Alkaloidy rostlin čeledi *Amaryllidaceae* jako inhibitory cholinesteras

Alkaloidy amarylkovitých rostlin jsou v centru pozornosti pro svůj potenciální inhibiční účinek vůči enzymům AChE a BuChE. Nejvýznamnější látkou celé skupiny je galanthamin. Od objevení inhibičních účinků galanthaminu vůči AChE byla testována řada dalších alkaloidů izolovaných z rostlin čeledi *Amaryllidaceae* i jejich syntetické deriváty. Podobně jako je tomu i v případě jiných biologických účinků amarylkovitých alkaloidů, souvisí i jejich inhibiční aktivita vůči AChE s určitými strukturálními znaky jejich molekul. Nejúčinnější látky spadají do dvou strukturálních typů a to galanthaminového a lykorinového.⁴²

6.2.3.1. Galanthaminový strukturální typ

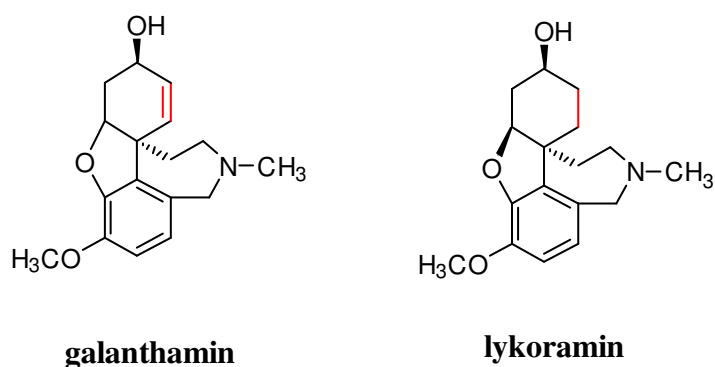
Při studiu amarylkovitých alkaloidů izolovaných z rostlin rodu *Narcissus* byly pozorovány společné strukturální znaky u látek, které vykazovaly nejvyšší inhibiční účinek vůči AChE.⁴² Nejúčinnější alkaloidy v této studii⁴² patřily do galanthaminového

strukturního typu. Nicméně i v rámci jedné strukturní skupiny bylo možné pozorovat značné rozdíly v inhibiční aktivitě vůči AChE. Látkami s nejvýraznějším účinkem byly galanthamin a sanguinin (*O*-demethylgalanthamin), přičemž aktivita sanguininu byla asi desetkrát vyšší než aktivita galanthaminu.⁴² Porovnáme-li struktury obou látek (Obr. 26), vidíme, že se molekuly těchto alkaloidů odlišují pouze jedním substituentem. Lze z toho usuzovat, že právě náhrada methoxyskupiny v molekule galanthaminu za hydroxylovou skupinu v molekule sanguininu vede ke zvýšení inhibičního účinku vůči AChE. Volná hydroxylová skupina sanguininu může interagovat s aktivním centrem enzymu, čímž lze vysvětlit jeho silný inhibiční účinek.



Obr. 26 Strukturní rozdíly mezi alkaloidy galanthaminem a sanguininem ve vztahu k jejich inhibičnímu účinku vůči AChE

Ve stejné studii⁴² však některé alkaloidy galanthaminového typu nevykazovaly žádný inhibiční účinek vůči AChE. Jednou z těchto látek byl také lykoramin, alkaloid, který se hojně vyskytuje také v zástupcích rostlin rodu *Lycoris* (Tab. 1). Struktura lykoraminu postrádá v porovnání s molekulou galanthaminu dvojnou vazbu na C-kruhu (Obr. 27). Předpokládá se, že absence dvojné vazby vede k jinému prostorovému uspořádání molekuly, které již nedovoluje, aby tato látka interagovala s aktivním centrem v molekule enzymu. Tím lze vysvětlit, proč lykoramin v dané studii nevykazoval žádný inhibiční účinek.



Obr. 27 Strukturní rozdíly mezi alkaloidy galanthaminem a lykoraminem ve vztahu k jejich inhibičnímu účinku vůči AChE

6.2.3.2. Lykorinový strukturní typ

Také u alkaloidů lykorinového typu již byly studovány vztahy mezi strukturou a inhibičním účinkem na AChE.⁴⁴ Hlavní reprezentant skupiny, lykorin, nemá strukturní předpoklady k vyvolání inhibiční aktivity.⁴⁴ Jako významnější se jeví jeho deriváty substituované na uhlících C1 a C2. Acylace na uhlíku C1 měla výrazný efekt na inhibiční účinek.⁴⁴ Takto odvozené sloučeniny jsou považovány za nejvýznamnější inhibitory AChE lykorinového typu. Naproti tomu acylace na uhlíku v poloze 2 vede ke ztrátě aktivity.⁴⁴ U dalších, přirozeně se vyskytujících alkaloidů lykorinového typu assoaninu a oxoassoaninu⁴² je jejich inhibiční účinek vysvětlován planaritou aromatického C-kruhu molekul. Z těchto poznatků lze vyvodit základní vizi strukturních předpokladů alkaloidů lykorinového typu souvisejících s inhibiční aktivitou vůči AChE: pyrrolo-fenanthridinové jádro, aromatický C-kruh, substituce na uhlíku C1.

6.2.4. Alkaloidy rostlin rodu *Lycoris* jako inhibitory cholinesteras

Rostliny rodu *Lycoris* jsou potenciálním zdrojem alkaloidů s inhibičním účinkem na aktivitu cholinesteras. Tyto rostliny mohou sloužit jako zdroje nových alkaloidních struktur. V současnosti však nebyly zatím izolovány žádné jiné než výše

zmíněné alkaloidy s výraznější inhibiční aktivitou, případně nebyly zatím u nově objevených látek jejich inhibiční účinky prostudovány.

Podíváme-li se však na zastoupení alkaloidů v jednotlivých druzích rostlin rodu *Lycoris* (Tab. 1), vidíme, že se zde vyskytují i alkaloidy, u kterých byla inhibiční aktivita vůči AChE prokázána. Tyto rostliny lze proto považovat za nové zdroje již známých alkaloidů s prokázanou inhibiční aktivitou. Druh *Lycoris radiata* je v současné době jedním z hlavních přírodních zdrojů galanthaminu.¹⁰ Obsah galanthaminu byl dále prokázán v druzích *L. aurea*^{45 - 48}, *L. albiflora*³², *L. incarnata*¹⁶, *L. traubii*⁴⁹, *L. longituba*^{50 - 51}, *L. squamigera*^{48, 52}, *L. chinensis*^{53 - 54}, *L. sprengeri*⁵⁵ a *L. quangxiensis*¹⁵. Sanguinin (*O*-demethylgalanthamin) byl v rámci rodu *Lycoris* izolován z druhů *L. radiata*^{8, 56}, *L. aurea*^{45, 46}, *L. incarnata*¹⁶, *L. longituba*⁵⁰ a *L. squamigera*⁵².

Uvidíme, do jaké míry budou nové přírodní zdroje galanthaminu a dalších inhibitorů AChE přínosné v praxi. Rostliny rodu *Lycoris* jsou zatím poměrně málo prostudovanou skupinou, u které by se další výzkum měl zaměřit zejména na stanovení kvantitativního zastoupení známých inhibitorů cholinesteras v jednotlivých rostlinných orgánech a na studium inhibiční aktivity u nově izolovaných alkaloidů.

6.3. Antimalarická aktivita

6.3.1. Charakteristika onemocnění

Malárie je parazitární onemocnění s primárním výskytem v tropických oblastech. Tyto oblasti zaručují dostatečnou teplotu a vlhkost podnebí, které jsou nezbytné pro životní cyklus parazita prostřednictvím přenašeče – samic komára rodu *Anopheles*.^{57 - 58} Výskyt malárie mimo tyto oblasti je způsoben zejména importem nemoci prostřednictvím turistů, kteří malarickou oblast navštívili. Nebezpečí malárie spočívá především v rozvoji rezistence původců nemoci na léčbu. To s sebou nese potřebu společnosti vyvíjet nová účinná antimalarika.

6.3.2. Patogeneze

Původcem malárie jsou čtyři druhy parazita rodu *Plasmodium* (krvinkovka, zimnička). Jedná se o druhy *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* a *Plasmodium falciparum*. Poslední jmenovaný druh je nejvíce obávaným.⁵⁸

Plazmodia mají složitý vývojový cyklus, při kterém se střídají pohlavní a nepohlavní stadia. Nepohlavní část vývojového cyklu probíhá v těle člověka, který hraje úlohu mezihostitele. Sporozoiti, nepohlavní stadia plazmodií, se krevní cestou postupně dostávají do jaterního parenchymu, výstelky cév a zejména erytrocytů. Červené krvinky slouží jako rezervoár vývojových stadií plazmodií a zároveň jako zdroj živin pro tato stadia. Při pomnožení plazmodií dochází k ruptuře červených krvinek a uvolnění vývojových stadií, která mohou napadnout další červené krvinky. Takto se může tento erytrocytární cyklus opakovat. Po určité době se v krvi začnou objevovat také pohlavní stadia, tzv. gametocyty. Gametocyty dokončují svůj cyklus v trávicím traktu samic komárů rodu *Anopheles*, které sají infikovanou krev člověka. V trávicím traktu komárů dochází k oplození a vývoji dalších sporozoitů, kteří se dostávají do slinných žláz komára odkud se při sání mohou opět dostat do krve člověka a celý cyklus se může opakovat.^{57 - 60}

Jak je vidět ze životního cyklu parazita, je pro člověka významné právě asexuální infekční stadium, které způsobuje klinické příznaky. Znalost konkrétního

druhu původce nákazy je klíčová jak pro průběh klinických příznaků nemoci, tak pro výběr vhodného antimalaricky působícího léčiva.

6.3.3. Klinický obraz

Malárie se může projevit až několik měsíců po nákaze. Zpočátku se objevují nespecifické symptomy, kterými jsou bolesti hlavy, bolesti svalů, nauzea, zvracení, fotofobie, malátnost, bledá kůže, hučení v uších. Pro onemocnění jsou však charakteristické typické malarické záchvaty, které nastávají při masivním nárazovém rozpadu erytrocytů. Při ruptuře červených krvinek se totiž uvolňují nejen nepohlavní stadia plazmodií, ale také jejich metabolity, které působí jako pyretika. Dochází k zimnici, třesavce, která trvá v průměru 10 až 15 minut. Následně u nemocného dochází k vysokým horečkám, které mohou v závislosti na původci trvat několik hodin a opakovat se ve frekvenci jednoho až tří dnů. Po odeznění horečky dochází k výraznému pocení, pacient pociťuje úlevu a vyčerpání.⁵⁸⁻⁵⁹

Nejnebezpečnější formou malárie je tropická malárie, při které dochází ke komplikacím způsobeným ukládáním erytrocytů ve stěnách kapilár vnitřních orgánů. Komplikací opakujících se malarických záchvatů jsou také anémie. Opakují-li se záchvaty v příliš krátkých intervalech, dochází k vysilování organismu a nemoc může vést až ke smrti.^{58,60}

6.3.4. Terapie

Při léčbě malárie je volba vhodného antimalarika řízena zejména fází nemoci, původcem onemocnění a snášenlivostí pacienta. Plánuje-li pacient cestovat do oblasti s výskytem malárie, zahajuje se u něho na doporučení Světové zdravotnické organizace (WHO) antimalarická profylaxe. Výběr konkrétního přípravku závisí na tom, do jaké oblasti pacient cestuje a jak riziková tato oblast je.

Do oblastí s nízkým rizikem nákazy malárie je lékem volby v rámci chemoprofylaxe chlorochin. Podmínkou však musí být, že se jedná o oblast chlorochin-senzitivní. V zónách středního rizika, kde se malárie vyskytuje celoročně a ne pouze v teplém období roku, jsou používány kombinace látek chlorochinu a proguanilu nebo meflochin. Pro oblasti s vysokým rizikem nákazy malárií je lékem

volby meflochin. Pokud je v dané oblasti hlášena rezistence na meflochin, je podávána kombinace atovachonu s proguanilem nebo eventuálně antibiotikum doxycyklin.

Pro terapii akutního záchvatu se používají stejné látky v jiném dávkování. Důležité je, aby dané léčivo účinkovalo na erytrocytární stádium nemoci. K dalším antimalarikům používaným v klinické praxi patří zejména pyrimetamin a semisyntetické deriváty artemisininu.

6.3.5. *In vitro* antimalarická aktivita alkaloidů rostlin rodu *Lycoris*

6.3.5.1. Lykorinový strukturní typ

Inhibiční účinek na původce malárie byl v rámci čeledi *Amaryllidaceae* prokázán již dříve u alkaloidu lykorinu. Tato látka byla izolována i z rostlin rodu *Lycoris* a proto můžeme i tyto rostliny považovat za zdroj nových struktur s potenciálním antimalarickým účinkem. U některých nových alkaloidů lykorinového typu, které byly poprvé izolovány právě ze zástupců rostlin rodu *Lycoris*, již byla antimalarická aktivita potvrzena.

Ve skupině alkaloidů lykorinového strukturního typu byla zaznamenána významná antimalarická aktivita u alkaloidu 5,6-dehydrolykorinu⁶. Tento alkaloid byl testován společně s dalšími alkaloidy jiných strukturních typů izolovaných z hlíz druhu *Lycoris radiata*. Jejich antimalarická aktivita byla testována proti kmenům *Plasmodium falciparum* D-6 a W-2 s chlorochinem jako pozitivní kontrolou. Ze všech alkaloidů vykazoval právě 5,6-dehydrolykorin nejvyšší antimalarický účinek a to především proti kmenu W-2 (Tab. 5)⁶. V porovnání s chlorochinem byl inhibiční účinek 5,6-dehydrolykorinu o tři řády nižší. Oproti ostatním testovaným alkaloidům však byla jeho aktivita vyšší minimálně o jeden řád.

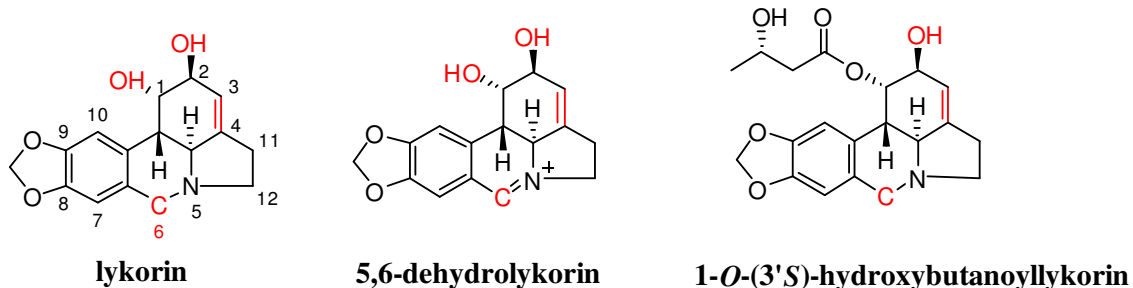
V roce 2008 byl z druhu *Lycoris traubii* izolován nový alkaloid lykorinového typu 1-*O*-(3'*S*)-hydroxybutanoyllykorin.⁴⁹ U této sloučeniny byla *in vitro* testována antimalarická aktivita na kmenech *Plasmodium falciparum* K1 a FCR3 s artemisininem jako pozitivní kontrolou. 1-*O*-(3'*S*)-hydroxybutanoyllykorin v této studii vykazoval výrazný inhibiční účinek na oba testované kmeny *P. falciparum* s hodnotami IC₅₀ 0,6000 µg/ml u kmenu K1 (hodnota IC₅₀ artemisininu 0,0057 µg/ml) a 0,450 µg/ml u kmenu FCR3 (hodnota IC₅₀ artemisininu 0,006 µg/ml).⁴⁹ Porovnáním hodnot IC₅₀

vidíme, že antimalarická aktivita 1-*O*-(3'*S*)-hydroxybutanolykorinu je o dva řády nižší než je antimalarická aktivita pozitivní kontroly artemisininu.

Jaké jsou současné poznatky o vztahu struktury alkaloidů lykorinového typu a jejich antimalarické aktivity? Studie prováděná na lykorinu a jeho syntetických derivátech došla k předpokladu, že pro přítomnost antimalarického účinku těchto sloučenin je nezbytná hydroxylová skupina na uhlíku C-1 a C-2 lykorinového skeletu. Acylací či jinou strukturní obměnou těchto hydroxylových skupin došlo ke snížení antimalarického účinku. Důležitou roli dále hraje přítomnost dvojné vazby mezi uhlíky C-3 a C-4. Významný je také uhlík v poloze 6 lykorinového skeletu. Oxidací uhlíku C-6 na laktam se antimalarický účinek snižuje (Obr. 28).⁶¹

Zaměříme-li se na výskyt daných strukturních znaků u výše jmenovaných alkaloidů lykorinového typu 5,6-dehydrolykorinu a 1-*O*-(3'*S*)-hydroxybutanolykorinu, vidíme, že jejich struktury těmto požadavkům do značné míry vyhovují. U 1-*O*-(3'*S*)-hydroxybutanolykorinu není splněna podmínka přítomnosti volné hydroxylové skupiny na uhlíku v poloze 1 lykorinového skeletu.

Při výše zmíněné studii⁶¹ neměl žádný ze synteticky připravených derivátů lykorinu vyšší antimalarickou aktivitu než samotný lykorin. Je otázkou, jaké výsledky nám přinese další výzkum zkoumající vztah struktury a antimalarického účinku sloučenin odvozených od lykorinu a zda bude připraven takový syntetický derivát, který by měl lepší antimalarický účinek než lykorin.



Obr.28 Strukturní znaky alkaloidů lykorinového strukturního typu související s antimalarickou aktivitou

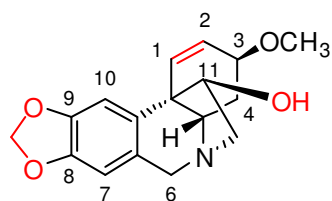
6.3.5.2. Krininový strukturní typ

Podobně jako u předchozí skupiny byla antimalarická aktivita prokázána i u některých alkaloidů krininového strukturního typu. Vedoucími sloučeninami jsou zatím haemanthamin a haemanthidin, u kterých byla prokázána významná antimalarická aktivita *in vitro* proti kmenu *Plasmodium falciparum* F32 s hodnotami IC_{50} $1,3 \pm 0,2 \mu\text{M}$ pro haemanthamin a $1,20 \pm 0,09 \mu\text{M}$ pro haemanthidin.⁶²

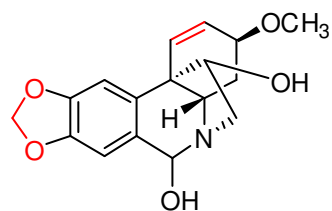
V současné době existují i u této skupiny látek určité představy o vztahu jejich struktury a antimalarického účinku. Porovnáním antimalarické aktivity přírodních sloučenin a jejich synteticky připravených derivátů se zjistilo, že výraznější antimalarický účinek mají sloučeniny s dvojnou vazbou mezi uhlíky C-1 a C-2 a methyendioxy-skupinou na kruhu A, což jsou strukturní znaky jak haemanthaminu, tak haemanthidinu. U derivátů haemanthaminu je pro účinek dále nezbytná hydroxylová skupina na uhlíku C-11.⁶² Tato zjištění vedou k předpokladu, že některé deriváty přirozeně se vyskytujících alkaloidů haemanthaminu a haemanthidinu mohou být dobrými inhibitory *Plasmodium falciparum*.

Mezi alkaloidy krininového strukturního typu izolované z rostlin rodu *Lycoris*, u kterých byla zaznamenána antimalarická aktivita, patří $3\alpha,6\beta$ -diacetyl-bulbispermin, 3α -hydroxy- 6β -acetylbulbispermin a 3α -methoxy- 6β -acetyl-bulbispermin.⁶ Účinky těchto látek byly testovány na kmenech *Plasmodium falciparum* D-6 a W-2 společně s výše zmíněným 5,6-dehydrolykorinem a dalšími izolovanými alkaloidy. Porovnáním hodnot IC_{50} vidíme, že $3\alpha,6\beta$ -diacetyl-bulbispermin, 3α -hydroxy- 6β -acetylbulbispermin a 3α -methoxy- 6β -acetyl-bulbispermin vykazovaly asi deskrát nižší inhibiční účinek než výše zmíněný 5,6-dehydrolykorin (Tab. 5).⁶

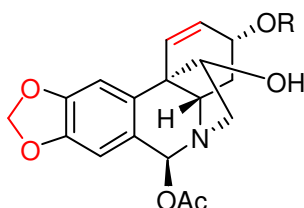
Výše diskutované strukturní znaky alkaloidů haemanthaminu a haemanthidinu, u kterých je předpokládán vztah s antimalarickým účinkem, můžeme vysledovat také ve strukturách $3\alpha,6\beta$ -diacetyl-bulbisperminu, 3α -hydroxy- 6β -acetylbulbisperminu a 3α -methoxy- 6β -acetyl-bulbisperminu (Obr. 29).



haemanthamin



haemanthidin



- R = Ac **3,6-diacetylbulbispermin**
 R = H **3-hydroxy-6-acetylbulbispermin**
 R = CH₃ **3-methoxy-6-acetylbulbispermin**

Obr. 29 Strukturální znaky alkaloidů krininového typu související s antimalarickou aktivitou

6.3.5.3. Homolykorinový strukturální typ

Při studiích inhibičního účinku alkaloidů homolykorinového strukturálního typu na kmenech prvoka *Plasmodium falciparum* nebyla zatím zaznamenána žádná významná antimalarická aktivita těchto látek⁶. Usuzuje se, že alkaloidy homolykorinového typu nemají strukturální předpoklady pro vyvolání antimalarického účinku.

6.3.6. Shrnutí antimalarické aktivity alkaloidů izolovaných z rostlin rodu *Lycoris*

Z rostlin rodu *Lycoris* byly izolovány nové alkaloidy s potenciálním antimalarickým účinkem. Jejich aktivita byla zatím testována v podmínkách *in vitro* na různých kmenech prvoka *Plasmodium falciparum*. Největší inhibiční účinek byl

zatím pozorován u alkaloidů lykorinového strukturního typu. Výraznou aktivitu vykazují i alkaloidy krininového strukturního typu. U obou skupin byly provedeny studie zabývající se vztahem struktury a účinku a byly definovány základní strukturní předpoklady související s antimalarickou aktivitou těchto látek.

Tabulka 5. *In vitro* antimalarická aktivita^a alkaloidů izolovaných z hlíz druhu *Lycoris radiata*⁶

Alkaloidy	Kmeny <i>Plasmodium falciparum</i>	
	D-6	W-2
5,6-dehydrolykorin	2,3	1,9
3 α ,6 β -diacetyl-bulbispermin	18,9	20,1
3 α -hydroxy-6 β -acetylbulbispermin	17,9	19,3
3 α -methoxy-6 β -acetylbulbispermin	21,3	23,4
8,9-methylendioxy-l-homolykorin- <i>N</i> -oxid	-	-
homolykorin- <i>N</i> -oxid	-	-
5,6-dihydro-5-methyl-2-hydroxyfenanthridin	-	-
chlorochin	9,8	6,7

^aantimalarická aktivita vyjádřena jako IC₅₀ v μ M (u chlorochinu v nM)

(-) IC₅₀ > 100 μ M

chlorochin použit jako pozitivní kontrola

7. Závěr

Rostliny rodu *Lycoris* představují další významný rod čeledi *Amaryllidaceae* s potenciálním využitím ve farmacii. V současné době je fytochemicky prozkoumáno 11 druhů. Jedná se o druhy *L. radiata*, *L. albiflora*, *L. aurea*, *L. traubii*, *L. caldwellii*, *L. guangxiensis*, *L. chinensis*, *L. incarnata*, *L. longituba*, *L. sprengeri* a *L. squamigera*.

Jedním z cílů této diplomové práce bylo vytvoření souboru alkaloidů, které byly doposud izolovány z rostlin rodu *Lycoris*. Z výše jmenovaných druhů bylo zatím izolováno 118 alkaloidů různých strukturních typů. Nejpočetněji je zastoupen strukturní typ lykorinový.

Dalším cílem diplomové práce bylo shrnutí současných poznatků o biologické aktivitě alkaloidů izolovaných z rostlin rodu *Lycoris*. Alkaloidy rostlin rodu *Lycoris* patří do širší skupiny amarylkovitých alkaloidů. Mnohé byly izolovány i z jiných rostlin čeledi *Amaryllidaceae* a jejich biologické účinky proto byly testovány při studiu jiných rostlinných druhů. Nejvýznamnějšími biologickými účinky alkaloidů rostlin rodu *Lycoris* jsou účinky protinádorové, inhibiční aktivita vůči AchE a BuChE a antimalarická aktivita.

Nejvýraznější protinádorové účinky vykazují alkaloidy lykorinového strukturního typu. Vedoucí sloučeninou je lykorin, jehož aktivita a mechanismus účinku již byly studovány dříve u jiných rostlinných druhů. Výraznou aktivitu vykazují také alkaloidy krininového strukturního typu haemanthamin, haemanthidin a 3 α -methoxy-6 β -acetylbuslbispermin a alkaloid pankratistatinového strukturního typu lykoricidinol (narciklasin). V rámci rodu *Lycoris* byly významné protinádorové účinky pozorovány u nově izolovaných alkaloidů 5,6-dehydrolykorinu, 3 α ,6 β -diacetyl-buslbisperminu a 3 α -hydroxy-6 β -acetylbuslbisperminu.

Inhibiční aktivita vůči enzymům AchE a BuChE je nejvýraznější u alkaloidů galanthaminového strukturního typu. Vedoucí sloučeninou je galanthamin. Rostliny rodu *Lycoris* jsou potenciálními zdroji této sloučeniny.

Alkaloidy s nejvýraznějšími antimalarickými účinky patří do strukturního typu lykorinového a krininového. V rámci rodu *Lycoris* je významné pozorování antimalarické aktivity u nově izolovaných alkaloidů 5,6-dehydrolykorinu, 3 α ,6 β -diacetyl-buslbisperminu a 3 α -hydroxy-6 β -acetylbuslbisperminu.

Při studiu výše zmíněných biologických účinků alkaloidů rostlin rodu *Lycoris* byly nastíněny základní vztahy mezi strukturou a účinkem.

Tato diplomová práce shrnuje současné poznatky o rostlinách rodu *Lycoris* a jejich sekundárních metabolitech. U alkaloidů již byly prokázány jejich významné biologické účinky s potenciálním využitím ve farmacii a medicíně. Další práce by měly svoji pozornost zaměřit na hlubší zkoumání vztahů mezi strukturou sloučenin a jejich biologickou aktivitou, na mechanismy účinku látek s prokázaným účinkem, kvantitativní zastoupení alkaloidů v jednotlivých rostlinných druzích a fytochemickou charakteristiku dalších druhů rostlin rodu *Lycoris*.

8. Literatura

- [1] Jin Z. *Amaryllidaceae and Sceletium alkaloids*. Natural Product Reports 2013, 30, 849-868
- [2] Jahodář L. *Farmakobotanika semenné rostliny*. Vyd. 2. Praha: Karolinum, 2009, 181 s.
- [3] Dalecká M., Havelek R., Královec K., Brůčková L., Cahlíková L. *Alkaloidy rostlin čeledi Amaryllidaceae jako potenciální léčiva v terapii nádorových onemocnění*. Chemické Listy 2013, 107, 701-708
- [4] Takos A. M., Rook F. *Towards a molecular understanding of the biosynthesis of Amaryllidaceae alkaloids in support of their expanding medical use*. International Journal of Molecular Sciences 2013, 14, 11713-11741
- [5] Kornienko A., Evidente A. *Chemistry, biology, and medicinal potential of narciclasine and its congeners*. Chemical Reviews 2008, 108, 1982-2014
- [6] Hao B., Shen S.F., Zhao Q.J. *Cytotoxic and antimalarial Amaryllidaceae alkaloids from the bulbs of Lycoris radiata*. Molecules 2013, 18, 2458-2468
- [7] Berkov S., Pavlov A., Georgiev V., Weber J., Bley T., Viladomat F., Bastida J., Codina C. *Changes in apolar metabolites during in vitro organogenesis of Pancratium maritimum*. Plant Physiology and Biochemistry 2010, 48, 827-835
- [8] Wang L., Yin Z.Q., Cai Y., Zhang X.Q., Yao X.S., Ye W.C. *Amaryllidaceae alkaloids from the bulbs of Lycoris radiata*. Biochemical Systematics and Ecology 2010, 38, 444-446
- [9] *Lycoris*. Flora of China. 2000, 24, 266-269 [online]. Dostupné z: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=119162.
Staženo dne: 19. 2. 2015
- [10] Berkov S., Georgieva L., Kondakova V., Atanassov A., Viladomat F., Bastida J., Codina C. *Plant sources of galanthamine: phytochemical and biotechnological aspects*. Biotechnology & Biotechnological Equipment 2009, 23, 1170-1176
- [11] *Lycoris radiata*. Wikimedia Commons [online]. Dostupné z: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lycoris_radiata_spiderlily_higanbana_DSCN9121.JPG
Staženo dne: 19. 2. 2015
- [12] *Lycoris albiflora*. Flickr [online]. Dostupné z: <https://www.flickr.com/photos/polotaro/5024335111/>

Staženo dne: 19. 2. 2015

- [13] *Lycoris aurea*. Tesselaar.net [online]. Dostupné z: <https://www.tesselaar.net.au/genus/lycoris/663-nerines-aurea>

Staženo dne: 19. 2. 2015

- [14] *Lycoris traubii*, *Lycoris caldwellii*, *Lycoris chinensis*, *Lycoris longituba*, *Lycoris sprengeri*, *Lycoris straminea*. Plantdelights.com [online]. Dostupné z: <http://www.plantdelights.com/Photo-Gallery/Lycoris-Surprise-Lily-Hurricane-Lily/>

Staženo dne: 19. 2. 2015

- [15] Li H.Y., Ma G.E., Xu Y., Hong S.H. *Alkaloids of Lycoris guangxiensis*. *Planta Medica* 1986, 259-261
- [16] Kihara M., Xu L., Konishi K., Kida K., Nagao Y., Kobayashi S., Shingu T. *Isolation and structure elucidation of a novel alkaloid, incartine, a supposed biosynthetic intermediate, from flowers of Lycoris incarnata*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1994, 42, 289-292
- [17] *Lycoris incarnata*. Flower-photo.info [online]. Dostupné z: http://www.flower-photo.info/products/detail.php?product_id=544

Staženo dne: 19. 2. 2015

- [18] *Lycoris squamigera*. Shenandoah Valley Flowers [online]. Dostupné z: <http://www.shenandoahvalleyflowers.com/tag/surprise-lilly>

Staženo dne: 19. 2. 2015

- [19] *Lycoris rosea*. Hangzhou Botanical Garden [online]. Dostupné z: <http://www.hzbg.cn/kpydshow.asp?ArticleID=1132>

Staženo dne: 19. 2. 2015

- [20] Elgorashi E. E., Drewes S. E., Van Staden J. *Organ-to-organ and seasonal variation in alkaloids from Crinum macowanii*. *Fitoterapia* 2002, 73, 490-495
- [21] Cao Z.F., Yang P., Zhou Q.S. *Multiple biological functions and pharmacological effects of lycorine*. *Science China: Chemistry* 2013, 56, 1382-1391
- [22] Wang L., Zhang X.Q., Yin Z.Q., Wang Y., Ye W.C. *Two new Amaryllidaceae alkaloids from the bulbs of Lycoris radiata*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 2009, 57, 610-611
- [23] Alberts B., Bray D., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P.,

- Základy buněčné biologie*. Ústí nad Labem: Espero Publishing 1998, 549-550 s., 571-589 s.
- [24] Nečas O. a kol. *Obecná biologie pro lékařské fakulty*. Vyd. 3. Jinočany: H&H, 2000, 264-284 s.
- [25] Silbernagl S., Lang F. *Atlas patofyziologie*. Praha: Grada Publishing, 2012, 14-17 s., 370-371 s.
- [26] Liu X.S., Jiang J., Jiao X.Y., Wu Y.E. Lin J.H., Cai Y.M. *Lycorine induces apoptosis and down-regulation of Mcl-1 in human leukemia cells*. *Cancer Letters* 2009, 274, 16-24
- [27] Li Y., Liu J., Tang L.J., Shi Y.W., Ren W., Hu W.X. *Apoptosis induced by lycorine in KM3 cells is associated with the G0/G1 cell cycle arrest*. *Oncology Reports* 2007, 17, 377-384
- [28] Adams J. M., Cory S. *The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival*. *Science* 1998, 281, 1322-1326
- [29] Liu J., Hu W.X., He L.F., Ye M., Li Y. *Effects of lycorine on HL-60 cells via arresting cell cycle and inducing apoptosis*. *FEBS Letters* 2004, 578, 245-250
- [30] Liu J., Li Y., Tang L.J., Zhang G.P. Hu W.X. *Treatment of lycorine on SCID mice model with human APL cells*. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2007, 61, 229-234
- [31] Lamoral-Theys D., Andolfi A., Van Goietsenoven G., Cimmino A., Le Calvé B., Wauthoz N., Mégalizzi V., Gras T., Bruyère C., Dubois J., Mathieu V., Kornienko A., Kiss R., Evidente A. *Lycorine, the main phenanthridine Amaryllidaceae alkaloid, exhibits significant antitumor activity in cancer cells that display resistance to proapoptotic stimuli: an investigation of structure – activity relationship and mechanistic insight*. *Journal of Medicinal Chemistry* 2009, 52, 6244-6256
- [32] Jitsuno M., Yokosuka A., Hashimoto K., Amano O., Sakagami H., Mimaki Y. *Chemical constituents of Lycoris albiflora and their cytotoxic activities*. *Natural Product Communications* 2011, 6, 187-192
- [33] Van Goietsenoven G., Andolfi A., Lallemand B., Cimmino A., Lamoral-Theys D., Gras T., Abou-Donia A., Dubois J., Lefranc F., Mathieu V., Kornienko A., Kiss R., Evidente A. *Amaryllidaceae alkaloids belonging to different structural subgroups display activity against apoptosis-resistant cancer cells*. *Journal of*

Natural Products 2010, 73, 1223-1227

- [34] Havelek R., Seifrtová M., Královec K., Bručková L., Cahlíková L., Dalecká M., Vávrová J., Řezáčová M., Opletal L., Bílková Z. *The effect of Amaryllidaceae alkaloids haemanthamine and haemanthidine on cell cycle progression and apoptosis in p53-negative human leukemic Jurkat cells*. *Phytomedicine* 2014, 21, 479-490
- [35] McNulty J., Nair J. J., Codina C., Bastida J., Pandey S., Gerasimoff J., Griffin C. *Selective apoptosis-inducing activity of crinum-type Amaryllidaceae alkaloids*. *Phytochemistry* 2007, 68, 1068-1074
- [36] Ibach B., Haen E. *Acetylcholinesterase inhibition in Alzheimer's disease*. *Current Pharmaceutical Design* 2004, 10, 231-251
- [37] Doležal M. a kol. *Farmaceutická chemie léčiv působících na autonomní nervový systém*. Praha: Nakladatelství Karolinum, 2011, 61-66 s.
- [38] Goedert M., Spillantini M. G. *A century of Alzheimer's disease*. *Science* 2006, 314, 777-781
- [39] Wang Y.H., Wan Q.L., Gu C.D., Luo H.R., Long C. L. *Synthesis and biological evaluation of lycorine derivatives as dual inhibitors of human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase*. *Chemistry Central Journal* 2012, 6, 96
- [40] Hardy J., Selkoe D. J. *The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and problems on the road of therapeutics*. *Science* 2002, 297, 353-356
- [41] <http://www.alzheimer.cz/alzheimerova-choroba/priznaky/>
Staženo dne: 17.2.2015
- [42] López S., Bastida J., Viladomat F., Codina C. *Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and Narcissus extracts*. *Life Sciences* 2002, 71, 2521-2529
- [43] Maelicke A., Samochocki M., Jostock R., Fehrenbacher A., Ludwig J., Albuquerque E. X., Zerlin M. *Allosteric sensitization of nicotinic receptors by galanthamine, a new treatment strategy for Alzheimer's disease*. *Society of Biological Psychiatry* 2001, 49, 279-288
- [44] McNulty J., Nair J. J., Little J. R. L., Brennan J. D., Bastida J. *Structure-activity studies on acetylcholinesterase inhibition in the lycorine series of Amaryllidaceae alkaloids*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2010, 20, 5290-5294

- [45] Yang Y., Huang S.X., Zhao Y.M., Zhao Q.S., Sun H.D. *Alkaloids from the bulbs of Lycoris aurea*. Helvetica Chimica Acta 2005, 88, 2550-2553
- [46] Li J., Pi H., Chang H., Zhang P., Ruan H., Wu J. *Extraction and structure identification of chemical constituents of alkaloids from Lycoris aurea*. Zhongguo Yaoshi 2013, 16, 809-811, ChemAbstr. Nr. 2013:1819032
- [47] Jin A., Lu X., Zhu Y.Y., Yu H.Y., Pi H.F., Zhang P., Ruand H.L. *Four new compounds from the bulbs of Lycoris aurea with neuroprotective effects against CoCl₂ and H₂O₂-induced SH-SY5Y cell injuries*. Archives of Pharmacal Research 2014, 37, 315-323
- [48] Hung S.H., Ma K.E. *The alkaloids of Amaryllidaceae. III. The alkaloids of Lycoris squamigera and two other lycoris species, and a new alkaloid, squamigerine*. Yaoxue Xuebao 1964, 11, 1-14, ChemAbstr. Nr. 1964:418434
- [49] Toriizuka Y., Kinoshita E., Kogure N., Kitajima M., Ishiyama A., Otaguro K., Yamanda H., Ōmura S., Takayama H. *New lycorine-type alkaloid from Lycoris traubii and evaluation of antitrypanosomal and antimalarial activities of lycorine derivates*. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2008, 16, 10182-10189
- [50] Zhu Y.Y., Li X., Yu H.Y., Xiong Y.F., Zhang P., Pi H.F., Ruand H.L. *Alkaloids from the bulbs of Lycoris longituba and their neuroprotective and acetylcholinesterase inhibitory activities*. Archives os Pharmacal Research. 2014
- [51] Liang Y., Feng X., Zhao X., Chen Y., Dong Y., Wang M. *Alkaloids from the bulbs of Lycoris longituba Y. Hsu et Q.J.Fan*. Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa 2010, 22, 241-244, ChemAbstr. Nr. 2010:1496205
- [52] Kitajima M., Kinoshita E., Kogure N., Takayama H. *Two new alkaloids from bulbs of Lycoris squamigera*. Heterocycles 2009, 77, 1389-1396
- [53] Mu H.M., Wang R., Li X.D., Jiang Y.M., Peng F., Xia B. *Alkaloid accumulation in different parts and ages of Lycoris chinensis*. Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal od Biosciences 2010, 65, 458-462
- [54] Ma G., Li H.Y., Huang H., Yan L., Hong S. *Alkaloids of Lycoris. XI. Antitumor principles and the alkaloids of Lycoris chinensis*. Zhongcaoyao 1987, 18, 342-345, ChemAbstr. Nr. 1987:642490
- [55] Wu W.M., Zhu Y.Y., Li H.R., Yu H.Y., Zhang P., Pi H.F., Ruan H.L. *Two new alkaloids from the bulbs of Lycoris sprengeri*. Journal of Asian Natural Products Research 2014, 16, 192-199

- [56] Li X., Yu H.Y., Wang Z.Y., Pi H.F., Zhang P., Ruan H.L. *Neuroprotective compounds from the bulbs of Lycoris radiata*. *Fitoterapia* 2013, 88, 82-90
- [57] Lüllmann H., Mohr K., Hein L. *Barevný atlas farmakologie*. Vyd. 4. Praha: Grada Publishing, 2012, 276-277 s.
- [58] Bednář M., Fraňková V., Schindler J., Souček A., Vávra J. *Lékařská mikrobiologie*. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996, 497-499 s.
- [59] Papáček M., Matěnová V., Matěna J., Soldán T. *Zoologie*. Vyd. 3. Praha: Scientia, 2000, 23-24 s.
- [60] Fendrich Z. *Malárie a její léčba*. *Klinická farmakologie a farmacie* 2005, 19, 89-94
- [61] Cedrón J. C., Gutiérrez D., Flores N., Ravelo Á. G., Estévez-Braun A. *Synthesis and antiplasmodial activity of lycorine derivatives*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2010, 18, 4694-4701
- [62] Cedrón J. C., Gutiérrez D., Flores N., Ravelo Á. G., Estévez-Braun A. *Synthesis and antimalarial activity of new haemanthamine-type derivatives*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2012, 20, 5464-5472
- [63] Song J.H., Zhang L., Song Y. *Alkaloids from Lycoris aurea and their cytotoxicities against the head and neck squamous cell carcinoma*. *Fitoterapia* 2014, 95, 121-126
- [64] Feng T., Wang Y.Y., Su J., Li Y., Cai X.H., Luo X.D. *Amaryllidaceae alkaloids from Lycoris radiata*. *Helvetica Chimica Acta* 2011, 94, 178-183
- [65] Wang H., Wang Y.H., Zhao F.W., Huang Q.Q., Xu J.J., Ma L.J., Long C.L. *Benzylphenethylamine alkaloids from the bulbs and flowers of Lycoris radiata*. *Chinese Herbal Medicines* 2011, 3, 60-63
- [66] Wang L., Zhang X.Q., Yin Z.Q., Wang Y., Ye W.C. *Two new Amaryllidaceae alkaloids from the bulbs of Lycoris radiata*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 2009, 57, 610-611
- [67] Kihara M., Konishi K., Xu L., Kobayashi S. *Alkaloidal constituents of the flowers of Lycoris radiata Herb. (Amaryllidaceae)*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1991, 39, 1849-1853
- [68] Zhao Y., Liang Y., Chen Y., Sun H., Wang M., Feng X. *Chemical constituents of bulbs of Lycoris longituba*. *Journal of Chinese medicinal materials* 2011, 34, 1366-1368

- [69] Cao P., Pan D.S., Han S., Yu C.Y., Zhao Q.J., Song Y., Liang Y. *Alkaloids from Lycoris caldwellii and their particular cytotoxicities against the astrocytoma and glioma cell lines*. Archives of Pharmacal Research 2013, 36, 927-932
- [70] Pi H.F., Zhang P., Ruan H.L., Zhang Y.H., Sun H. D., Wu J. Z. *A new alkaloid from Lycoris aurea*. Chinese Chemical Letters 2009, 20, 1319-1320

9. Seznam zkratk

ACh	acetylcholin
AChE	acetylcholinesteráza
AD	Alzheimerova choroba
APAF-1	apoptotický proteázu aktivující faktor 1
Bak	BCL2-antagonist/killer
Bax	BCL2-associated X protein
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
BuChE	butyrylcholinesteráza
CDK	cyklin-dependentní kináza
CDK2	cyklin-dependentní kináza 2
CDK4	cyklin-dependentní kináza 4
D-CDK4	komplex cyklinu D a cyklin-dependentní kinázy
DNA	deoxyribonukleová kyselina
E-CDK2	komplex cyklinu E a cyklin-dependentní kinázy 2
IC50	inhibiční koncentrace
Mcl-1	myeloid cell leukemia 1
mRNA	mesengerová ribonukleová kyselina
Rb	retinoblastomový protein
TCM	tradiční čínská medicína

Abstrakt

Autor: Petra Nekolná

Název: Alkaloidy čeledi *Amaryllidaceae*: rod *Lycoris*

Diplomová práce

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické botaniky a ekologie

2015, 79 s.

Cílem této diplomové práce bylo shrnout současné poznatky o alkaloidech izolovaných z rostlin rodu *Lycoris* čeledi *Amaryllidaceae*. Byla uvedena botanická charakteristika fytochemicky prostudovaných druhů rostlin rodu *Lycoris*, sestaven soubor alkaloidů, které byly z těchto rostlin izolovány a uvedeny poznatky o jejich biologické aktivitě.

V rámci rodu *Lycoris* bylo doposud fytochemicky prozkoumáno 11 druhů. Celkem bylo z těchto rostlin izolováno 118 alkaloidů. Alkaloidy izolované ze zástupců rostlin rodu *Lycoris* jsou rozděleny do několika strukturních typů. Nejpočetněji jsou zastoupeny strukturní typy lykorinový, homolykorinový, krininový, galanthaminový a pankratistatinový. U alkaloidů byla pozorována protinádorová aktivita, inhibiční aktivita vůči enzymu acetylcholinesteráze a antimalarická aktivita. Biologická aktivita alkaloidů souvisí s jejich strukturou. Nejvýraznější protinádorová aktivita byla pozorována u látek lykorinového, krininového a pankratistatinového typu. Inhibiční aktivita vůči enzymu acetylcholinesteráze (AChE) byla nejvýraznější u alkaloidů galanthaminového typu. Nejvýraznější antimalarická aktivita byla pozorována u alkaloidů lykorinového a krininového strukturního typu.

Klíčová slova:

Lycoris, *Amaryllidaceae*, alkaloidy, protinádorová aktivita, antimalarická aktivita, Alzheimerova choroba, inhibitory cholinesteras

Abstract

Author: Petra Nekořná

Title: Alkaloids of family *Amaryllidaceae*: genus *Lycoris*

Diploma thesis

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Pharmaceutical Botany and Ecology

2015, 79 p.

The aim of this diploma thesis was to summarize the findings about alkaloids which were isolated from *Lycoris* plants of *Amaryllidaceae* family. It contains a botanical characteristics of species of genus *Lycoris* which were studied phytochemically, a file of alkaloids which were isolated from these plants and findings about the biological activity of these compounds.

Within the genus *Lycoris* 11 species were studied phytochemically and 118 alkaloids were isolated from these plants. Alkaloids which were isolated from *Lycoris* plants are divided in several structural groups. The lycorine-, homolycorine-, crinine-, galanthamine- and pancratistatine-type alkaloids occur the most numerously. Anticancer, acetylcholinesterase-inhibitory and antimalarial activity of the alkaloids were described. The biological activity of alkaloids is connected with their structure. The most significant anticancer activity was observed in alkaloids from lycorine-, crinine- and pancratistatine-type. Acetylcholinesterase-inhibitory activity was pronounced the most in galanthamine-type alkaloids. The most noticeable antimalarial activity was observed in lycorine- and crinine- type alkaloids.

Keywords:

Lycoris, *Amaryllidaceae*, alkaloids, anticancer activity, antimalarial activity, Alzheimer's disease, cholinesterase inhibitors