

## ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické botaniky a ekologie

Kandidát: **Mgr. Marcela Šafratová**

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

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

Klíčová slova: *Narcissus poeticus* cv. Pink Parasol, Amaryllidaceae, alkaloidy, acetylcholinesterasa, butyrylcholinesterasa, prolyl oligopeptidasa, cytotoxicita

Jako zdroj Amaryllidaceae alkaloidů pro studium jejich biologické aktivity byly vybrány cibule rostliny *Narcissus poeticus* cv. Pink Parasol. Koncentrovaný alkaloidní extrakt byl připraven standardními extrakčními postupy a separován sloupcovou chromatografií na oxidu hlinitém za použití stupňovité eluce benzinem, chloroformem a ethanolem. Sloupcová chromatografie, vakuová sloupcová chromatografie, preparativní TLC a krystalizace vedly k izolaci 15 alkaloidů, z nichž 2 sloučeniny byly identifikovány jako nové struktury. Identifikace všech izolovaných látek byla provedena na základě spektrometrických technik (NMR, MS, optická otáčivost) a porovnáním získaných dat s literaturou. Alkaloidy izolované v dostatečném množství byly testovány na schopnost inhibovat erythrocytární AChE a sérovou BuChE, POP (byla stanovena  $IC_{50}$ ), cytotoxicitu, inhibici AKR3C1 a antimikrobiální aktivitu.

Cholinesterasová inhibiční aktivita byla stanovena *in vitro* modifikovanou spektrofotometrickou Ellmanovou metodou. V rámci testování inhibiční aktivity AChE byly všechny testované alkaloidy kromě galanthaminu neaktivní. Nejúčinnějším inhibitorem BuChE byla nově izolovaná látka narcipavlin, která měla inhibiční aktivitu  $IC_{50} = 24,4 \pm 1,2 \mu\text{M}$ . Další izolované alkaloidy byly vzhledem k jejich vysoké butyrylcholinesterasové aktivitě považovány za neaktivní ( $IC_{50} > 40 \mu\text{M}$ ).

Inhibiční aktivita vůči POP byla stanovena spektrofotometrickou metodou, jako substrát byl použit Z-Gly-Pro-*p*-nitroanilid. Nejúčinnějším POP inhibitorem v rámci studie byl norlykoramin ( $IC_{50} = 0,21 \pm 0,01 \text{ mM}$ ), jehož aktivita byla srovnatelná se standardem berberinem ( $IC_{50} = 0,14 \pm 0,02 \text{ mM}$ ), a vykázal tak nejsilnější POP inhibici v rámci doposud

testovaných Amaryllidaceae alkaloidů. Další izolované alkaloidy byly považovány za neaktivní ( $IC_{50} > 20 \text{ mM}$ ).

Z izolovaných alkaloidů, které byly testovány na cytotoxicitu, byl nejvýznamnější haemanthamin, který se vyznačoval selektivním účinkem na nádorové buňky. Testovanými nádorovými liniemi byly Caco-2 ( $IC_{50} = 0,99 \pm 0,14 \text{ }\mu\text{M}$ ), HT-29 ( $IC_{50} = 0,59 \pm 0,01 \text{ }\mu\text{M}$ ) a zdravá linie buněk FHs 74 ( $IC_{50} = 19,5 \pm 8,9 \text{ }\mu\text{M}$ ).

Některé alkaloidy byly v rámci výzkumu testovány na inhibici enzymu AKR1C3, byly shledány jako neaktivní.

Antimikrobiální a antifungální studie, která byla provedena na vybraných alkaloidech, neprokázala žádný významný inhibiční efekt na růst vybraných bakteriálních kmenů a kvasinek.