

## ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické botaniky

Kandidát: **Mgr. Eliška Kohelová**

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

Název disertační práce: **Alkaloidy *Zephyranthes citrina* (Amaryllidaceae): izolace, strukturní identifikace, biologická aktivita.**

Klíčová slova: Amaryllidaceae alkaloidy, *Zephyranthes*, Alzheimerova choroba, AChE, BuChE, POP, GSK-3 $\beta$ , nádorová onemocnění

Rostlina *Zephyranthes citrina* Baker byla na základě screeningové studie a literární rešerše vybrána pro podrobnou fytochemickou práci za účelem zisku co nejširšího spektra Amaryllidaceae alkaloidů. Z 35 kg čerstvých cibulí bylo získáno 151 g přečištěného alkaloidního extraktu, který byl rozdělen pomocí sloupcové chromatografie na téměř 700 frakcí. Tyto frakce byly na základě kontrolní TLC spojeny do 21 podfrakcí, z nichž bylo pomocí extrakce kapalina-kapalina, flash chromatografie, preparativní TLC a krystalizace izolováno 27 alkaloidů. Všechny látky byly identifikovány pomocí MS (EI, ESI), HRMS, 1D- a 2D-NMR, CD, optické otáčivosti a porovnáním dat s literaturou. U sedmi z nich se jednalo o nové dosud nepopsané struktury (6 $\alpha$ -ethoxyhippeastidin, 10-deoxy-6 $\alpha$ -ethoxyhippeastidin, narcieliin, zephyjanin, zephycitrin I, 7-ethoxy-10-methoxy-1-methyllykorenan-9-ol a zephycitrin II). Všechny alkaloidy izolované v dostatečném množství byly podrobeny testům jejich biologické aktivity spojené s Alzheimerovou chorobou (inhibice hAChE, hBuChE, POP) a nádorovými onemocněními.

Inhibice erytrocytární hAChE a sérové hBuChE byla stanovena pomocí modifikované Ellmanovy metody. Nejzajímavější aktivitu vůči cholinesterázám vykázal nově izolovaný alkaloid narcikachninového strukturního typu narcieliin ( $IC_{50hAChE} = 18,7 \pm 2,3 \mu M$ ,  $IC_{50hAChE} = 1,34 \pm 0,31 \mu M$ ). Prostřednictvím studie enzymové kinetiky byla objasněna interakce mezi narcieliinem a hAChE a hBuChE. Dále byla provedena predikce průchodu narcieliinu přes HEB za využití PAMPA-BBB studie. *In vitro* data byla podpořena *in silico* studiemi narcieliinu v aktivním místě hAChE/hBuChE.

Stanovení inhibice vůči POP bylo provedeno spektrofotometricky. Některé látky vykázaly aktivitu srovnatelnou s použitým standardem berberinem ( $IC_{50} = 142 \pm 21 \mu M$ ) a to narcieliin

( $IC_{50} = 163 \pm 13 \mu M$ ), zephyjanin ( $IC_{50} = 160 \pm 10 \mu M$ ), lykoramin ( $IC_{50} = 150 \pm 10 \mu M$ ) a 9-*O*-demethylgalanthin ( $IC_{50} = 146 \pm 16 \mu M$ ).

Izolované alkaloidy byly podrobeny screeningu viability po dobu 48 hodin na devíti nádorových liniích (Jurkat, MOLT-4, A549, HT-29, PANC-1, A2780, HeLa, MCF-7 a SAOS-2) a jedné zdravé (MRC-5) buněčné linii. Jedinými cytotoxicky aktivními látkami byly haemanthamin, haemanthidin, lykorin a buphanisin.

Na základě získaných výsledků je možné konstatovat, že rostlina *Z. citrina* představuje zajímavý zdroj celé řady biologicky aktivních látek s potenciálem pro další studium.