

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMAKOLOGIE A FARMACEUTICKÉ BOTANIKY

DIPLOMOVÁ PRÁCE

ALKALOIDY ČELEDI AMARYLLIDACEAE: rody endemické v Jižní Africe
ALKALOIDS OF AMARYLLIDACEAE FAMILY: endemic genera in South Africa

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Kateřina Hradiská Breiterová, Ph.D.

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

Hradec Králové, září 2024

Hana Komrzýová

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji PharmDr. Kateřině Hradiské Breiterové, Ph.D. za poskytnuté materiály, vstřícný přístup a odborné rady při zpracování této práce. Dále děkuji své rodině za veškerou podporu během studia.

PROHLÁŠENÍ

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně (pod vedením školitele). Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové, září 2024

.....

Podpis

OBSAH

OBSAH	4
SEZNAM ZKRATEK	6
SEZNAM TABULEK	8
SEZNAM OBRÁZKŮ	9
1 ÚVOD.....	13
2 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE.....	14
3 ČELEĎ AMARYLLIDACEAE J.ST.-HIL.....	15
3.1 Podčeleď Amaryllidoideae.....	16
4 RODY ENDEMICKÉ V JIŽNÍ AFRICE	19
4.1 Geografické oblasti a hortikulturní zóny Jihoafrické republiky.....	19
4.1.1 Provincie a biomy Jihoafrické republiky.....	19
4.1.2 Hortikulturní zóny	21
4.2 Rod <i>Amaryllis</i> L.....	22
4.2.1 <i>Amaryllis belladonna</i> L.....	22
4.2.2 <i>Amaryllis paradisicola</i> Snijman.....	23
4.3 Rod <i>Ammocharis</i> Herb.....	24
4.3.1 <i>Ammocharis coranica</i> Herb.....	25
4.4 Rod <i>Boophone</i> Herb.....	26
4.4.1 <i>Boophone disticha</i> Herb.....	27
4.4.2 <i>Boophone haemanthoides</i> F.M.Leight.....	28
4.5 Rod <i>Brunsvigia</i> Heist.....	30
4.6 Rod <i>Crinum</i> L.....	34
4.7 Rod <i>Cyrtanthus</i> Aiton	36
5 ALKALOIDY IZOLOVANÉ Z ENDEMICKÝCH RODŮ JIŽNÍ AFRIKY	39
5.1 Norbelladinový typ	39
5.2 Lykorinový typ.....	40
5.3 Homolykorinový typ.....	42
5.4 Galantindolový typ	43
5.5 Krininový typ	43
5.6 Haemanthaminový typ	45
5.7 Narciklasinový typ.....	47
5.8 Pretazettinový typ	47
5.9 Plikaminový typ.....	48
5.10 Montaninový typ.....	48
5.11 Isminový typ.....	49

5.12	Galanthaminový typ	49
5.13	Ostatní typy.....	49
5.13.1	Augustaminový typ.....	49
5.13.2	Cheryllinový typ.....	50
6	BIOLOGICKÁ AKTIVITA.....	59
6.1	Antiproliferativní aktivita	59
6.1.1	Nádorová onemocnění	59
6.1.2	Charakteristika nádorových buněk a nádorového bujení	61
6.1.3	Studie zkoumající antiproliferativní aktivitu extraktů z více endemických rodů rostlin Jižní Afriky najednou	65
6.1.4	Rod <i>Amaryllis</i> L.....	66
6.1.5	Rod <i>Boophone</i> Herb. a <i>Cyrtanthus</i> Aiton.....	69
6.1.6	Rod <i>Brunsvigia</i> Heist.....	72
6.2	Antiprotozoální aktivita	73
6.2.1	Protozoální onemocnění	73
6.2.2	Malárie	74
6.2.3	Rod <i>Amaryllis</i> L.....	78
6.2.4	Rod <i>Brunsvigia</i> Heist.....	82
6.2.5	Rod <i>Cyrtanthus</i> Aiton	83
6.3	Inhibiční aktivita vůči acetylcholinesterase a butyrylcholinesterase	83
6.3.1	Alzheimerova choroba.....	83
6.3.2	Studie zkoumající inhibiční aktivitu vůči úhoří acetylcholinesterase u alkaloidů z více endemických rodů Jižní Afriky najednou	88
6.3.3	Rod <i>Amaryllis</i> L. a rod <i>Crinum</i> L.....	91
6.3.4	Rod <i>Ammocharis</i> Herb.....	92
6.4	Další biologická aktivita alkaloidů vybraných endemických rodů Jižní Afriky	92
6.4.1	Antibakteriální a antifungální aktivita	92
6.4.2	Axiolytická a antidepresivní aktivita	94
6.5	Využití vybraných endemických rostlin čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. v tradiční medicíně.....	95
7	ZÁVĚR.....	97
8	ABSTRAKT	99
9	ABSTRACT	100
10	LITERATURA.....	101

SEZNAM ZKRATEK

5123tc	Buněčná linie potkaního hepatomu
A2780	Buněčná linie lidského karcinomu vaječníků
A β	β -amyloid
Ach	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterasa
AD	Alzheimerova choroba
AmA	Amarylkovité alkaloidy
AMK	Aminokyselina
ApoE4	Apolipoprotein E4
APP	Amyloidový prekurzorový protein
BJ	Buněčná linie lidských fibroblastů
BL6	Buněčná linie myšího melanomu
BuChE	Butyrylcholinesterasa
CAK	Cyklin aktivační kináza
CDK	Cyklin dependentní kináza
CEM	Buněčná linie akutní lymfoblastické leukémie
DMF	Dimethylformamid
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
FAD	Familiární Alzheimerova choroba
G+	Gram-pozitivní
G-	Gram-negativní
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
G-361	Buněčná linie maligního melanomu
hAChE	Lidská acetylcholinesterasa
hBuChE	Lidská butyrylcholinesterasa
HEK-293t	Linie lidských embryonálních ledvinných buněk
HeLa	Buněčná linie adenokarcinomu děložního čípku Henrietty Lacksové
HepG2	Buněčná linie lidského karcinomu jater
HPTLC	Vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
IC ₅₀	Inhibiční koncentrace
JA	Jižní Afrika
JAR	Jihoafrická republika
Jurkat	Buněčná linie lidských T-lymfocytů
K562	Buněčná linie chronické myeloidní leukémie
L6	Buněčná linie potkaních kosterních myoblastů

L-Phe	L-fenylalanin
L-Tyr	L-tyrosin
MCF7	Buněčná linie adenokarcinomu prsu
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazoliumbromid
SERT	Transportní protein pro zpětné vychytávání serotoninu
SH-SY5Y	Buněčná linie lidských neuroblastomových buněk
TBS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
TGF- β	Transformující růstový faktor β
TNF	Tumor nekrotizující faktor
U251	Buněčná linie lidských glioblastomových buněk
U87	Buněčná linie lidských glioblastomových buněk
UHC	Univerzální zdravotní pokrytí
USD	Americký dolar
Vero	Buněčná linie ledvin kočkodana zeleného
WHO	Světová zdravotnická organizace

SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Taxonomické zařazení čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil.	15
Tab. 2: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky – rody <i>Amaryllis</i> L., <i>Amموcharis</i> Herb., <i>Boophone</i> Herb.	51
Tab. 3: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. – rod <i>Brunsvingia</i> Heist.	53
Tab. 4: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky – rod <i>Crinum</i> L.	55
Tab. 5: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. – rod <i>Cyrtanthus</i> Aiton.	58
Tab. 6: Souhrn naměřených hodnot IC ₅₀ (μg/ml) u vybraných testovaných endemických rostlin JA	66
Tab. 7: Antiproliferativní aktivita vybraných alkaloidů	67
Tab. 8: Antineoplastická aktivita IC ₅₀ (μg/ml) surového methanolového extraktu a z něj izolovaných alkaloidů z <i>A. belladonna</i>	68
Tab. 9: Antineoplastická aktivita IC ₅₀ (μM) zkoumaných AmA	71
Tab. 10: Souhrn naměřených hodnot antiproliferativní aktivity IC ₅₀ (μg/ml) zkoumaných alkaloidů <i>B. radulosa</i> W.T.Aiton	73
Tab. 11: Dělení antimalarik dle jejich účinnosti vůči vývojovým stádiím plasmodií – příklady	77
Tab. 12: Dělení antimalarik dle jejich indikace – příklady	77
Tab. 13: Antiprotozoální aktivita IC ₅₀ (μg/ml) surového methanolového extraktu a z něj izolovaných alkaloidů z <i>A. belladonna</i>	79
Tab. 14: Inhibiční aktivita IC ₅₀ (μM) ambellinových derivátů vůči jaterním formám <i>P. berghei</i> a jejich hepatotoxický potenciál	81
Tab. 15: Souhrn naměřených hodnot antiplasmodiální aktivity IC ₅₀ (μg/ml) zkoumaných alkaloidů <i>B. radulosa</i> W.T.Aiton	83
Tab. 16: Inhibiční aktivita IC ₅₀ (μM) zkoumaných AmA proti biotransformaci acetylthiocholinu pomocí úhoří AChE	88
Tab. 17: Inhibiční aktivita K _i (μM) synteticky připravených derivátů lykorinu proti biotransformaci acetylthiocholinu pomocí úhoří AChE	89
Tab. 18: Naměřená hodnoty inhibiční aktivity vůči úhoří AChE a vypočtené vazebné afinity čtyř alkaloidů izolovaných z <i>A. belladonna</i>	91
Tab. 19: Výsledné hodnoty vazebných energií zkoumaných AmA v aktivních místech hAChE a hBuChE získané v rámci molekulárního dokování.	92
Tab. 20: AChE inhibiční aktivita surového extraktu, butanolové a ethylacetátové frakce, a lykorinu izolovaných z cibulí <i>A. coranica</i> Herb.	92
Tab. 21: Antibakteriální a antifungální aktivita šesti zkoumaných alkaloidů izolovaných z <i>A. belladonna</i> L.	93
Tab. 22: Antibakteriální aktivita uvedená jako MIC (μg/ml) dvou zkoumaných alkaloidů izolovaných z <i>B. disticha</i> Herb.	93

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Mapa rozšíření podčeledi Amaryllidoideae	16
Obr. 2: Graf procentuálního zastoupení jednotlivých strukturních typů AmA	17
Obr. 3: Zjednodušené schéma biosyntézy základních strukturních typů AmA	18
Obr. 4: Mapa světových květinových říší	19
Obr. 5: Provincie JAR	19
Obr. 6: Biomy JAR	20
Obr. 7: Doplnující geografické oblasti JA	20
Obr. 8: Hortikulturní zóny JA	21
Obr. 9: Mapa výskytu <i>A. belladonna</i> L. v JAR	22
Obr. 10: <i>A. belladonna</i> L. – cibule	22
Obr. 11: <i>A. belladonna</i> L. v květu	22
Obr. 12: <i>A. belladonna</i> L. – detail květu	23
Obr. 13: <i>A. belladonna</i> L. – černé prašníky	23
Obr. 14: <i>A. belladonna</i> L. – listy	23
Obr. 15: Mapa výskytu <i>A. paradisicola</i> Snijman v JAR	24
Obr. 16: <i>A. paradisicola</i> Snijman	24
Obr. 17: <i>A. baumii</i> (Harms) Milne-Redh. & Schweick	24
Obr. 18: <i>A. longifolia</i> (L.) Herb	24
Obr. 19: <i>A. nerinoides</i> (Baker) Lehmillier	24
Obr. 20: Výskyt <i>A. coranica</i> Herb. v JA	25
Obr. 21: <i>A. coranica</i> Herb. – listy	25
Obr. 22: <i>A. coranica</i> Herb. – detail listů	25
Obr. 23: <i>A. coranica</i> Herb. – detail květu	25
Obr. 24: <i>A. coranica</i> Herb. – plody	26
Obr. 25: <i>A. coranica</i> Herb. v květu	26
Obr. 26: Výskyt <i>B. disticha</i> Herb. v JA	27
Obr. 27: <i>B. disticha</i> Herb. – listy	27
Obr. 28: <i>B. disticha</i> Herb. – okoličnaté květenství	27
Obr. 29: <i>B. disticha</i> Herb. – detail květů	27
Obr. 30: Mapa výskytu <i>B. haemanthoides</i> F.M.Leight. v JAR	28
Obr. 31: <i>B. haemanthoides</i> F.M.Leight. – cibule s listy	28
Obr. 32: <i>B. haemanthoides</i> F.M.Leight. – okoličnaté květenství	29
Obr. 33: <i>B. haemanthoides</i> F.M.Leight. – detail květů	29
Obr. 34: <i>B. haemanthoides</i> subsp. <i>ernesti-ruschii</i> (Dinter & G.M.Schulze) G.D.Duncan & C.C.Tsang – cibule a listy	30
Obr. 35: <i>B. haemanthoides</i> subsp. <i>ernesti-ruschii</i> (Dinter & G.M.Schulze) G.D.Duncan & C.C.Tsang v květu	30

Obr. 36: <i>B. elandsmontana</i> Snijman	31
Obr. 37: <i>B. pulchra</i> (W.F.Barker) D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies	31
Obr. 38: <i>B. undulata</i> F.M.Leight	31
Obr. 39: Mapa výskytu <i>B. elandsmontana</i> Snijman v JAR	31
Obr. 40: Mapa výskytu <i>B. pulchra</i> (W.F.Barker) D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies v JAR	31
Obr. 41: Mapa výskytu <i>B. undulata</i> F.M.Leight v JAR	31
Obr. 42: <i>B. herrei</i> F.M.Leight. ex W.F.Barker	32
Obr. 43: <i>B. josephinae</i> [Ker-Gawl.]	32
Obr. 44: <i>B. comptonii</i> W.F.Barker	32
Obr. 45: <i>B. namaquana</i> D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies	32
Obr. 46: <i>B. radula</i> W.T.Aiton	32
Obr. 47: <i>B. litoralis</i> R.A.Dyer	32
Obr. 48: <i>B. grandiflora</i> Lindl	32
Obr. 49: <i>B. josephinae</i> [Ker-Gawl.] – listy	32
Obr. 50: <i>B. bosmaniae</i> F.M.Leight – poléhavé listy	32
Obr. 51: <i>B. herrei</i> F.M.Leight. ex W.F.Barker – listy nad zemí	32
Obr. 52: <i>B. namaquana</i> D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies – listy pokryté trichomy	32
Obr. 53: <i>B. nervosa</i> (Poir.)	32
Obr. 54: <i>B. marginata</i> (Jacq.) W.T.Aiton	33
Obr. 55: <i>B. orientalis</i> Ait. ex Eckl	33
Obr. 56: <i>B. bosmaniae</i> F.M.Leight	33
Obr. 57: <i>B. gregaria</i> R.A.Dyer	33
Obr. 58: <i>B. radulosa</i> W.T.Aiton	33
Obr. 59: <i>C. macowanii</i> Baker	34
Obr. 60: <i>C. graminicola</i> I.Verd	34
Obr. 61: <i>C. campanulatum</i> Herb.	34
Obr. 62: <i>C. acaule</i> Baker	35
Obr. 63: <i>C. bulbispermum</i> (Brum.f.) Milne-Redh. & Schweick.	35
Obr. 64: <i>C. buphanoides</i> Welw. ex Baker	35
Obr. 65: <i>C. kirkii</i> Baker	35
Obr. 66: <i>C. lineare</i> L.f.	35
Obr. 67: <i>C. lugardiae</i> N.E.Br.	35
Obr. 68: <i>C. minimum</i> Milne-Redh.	35
Obr. 69: <i>C. moorei</i> Hook.f.	35
Obr. 70: <i>C. paludosum</i> I.Verd.	35
Obr. 71: <i>C. stuhlmanii</i> Baker	35
Obr. 72: <i>C. variabile</i> Herb.	35

Obr. 73: Výskyt rodu <i>Cyrtanthus</i> Aiton v JA	36
Obr. 74: Výskyt <i>C. breviflorus</i> Harv. v JA	36
Obr. 75: Výskyt <i>C. sanguinea</i> Walp. v JA	36
Obr. 76: Výskyt <i>C. guthrieae</i> L.Bolus	36
Obr. 77: Výskyt <i>C. leptosiphon</i> Snijman	36
Obr. 78: <i>C. guthrieae</i> L.Bolus	37
Obr. 79: <i>C. leptosiphon</i> Snijman	37
Obr. 80: <i>C. breviflorus</i> Harv.	37
Obr. 81: <i>C. sanguinea</i> Walp.	37
Obr. 82: <i>C. obliquus</i> (L.f.) L.f.	37
Obr. 83: <i>C. tuckii</i> Baker	37
Obr. 84: <i>C. leucanthus</i> Schltr.	37
Obr. 85: <i>C. stenanthus</i> Baker	37
Obr. 86: <i>C. flammosus</i> Snijman & Van Jaarsv. – okřídlená semena	38
Obr. 87: <i>C. ventricosus</i> Willd.	38
Obr. 88: <i>C. elatus</i> (Jacq.) Traub	38
Obr. 89: Strukturní vzorce alkaloidů norbelladinového typu	39
Obr. 90: Strukturní vzorce alkaloidů lykorinového typu	42
Obr. 91: Strukturní vzorce alkaloidů homolykorinového typu	42
Obr. 92: Strukturní vzorce alkaloidů galantindolového typu	43
Obr. 93: Strukturní vzorce alkaloidů krininového typu	45
Obr. 94: Strukturní vzorce alkaloidů haemanthaminového typu	47
Obr. 95: Strukturní vzorce alkaloidů narciklasinového typu	47
Obr. 96: Strukturní vzorce alkaloidů pretazettinového typu	48
Obr. 97: Strukturní vzorce alkaloidů plikaminového typu	48
Obr. 98: Strukturní vzorce alkaloidů montaninového typu	48
Obr. 99: Strukturní vzorce alkaloidů isminového typu	49
Obr. 100: Strukturní vzorce alkaloidů galanthaminového typu	49
Obr. 101: Strukturní vzorce alkaloidů augustaminového typu	49
Obr. 102: Strukturní vzorce alkaloidů cheryllinového typu	50
Obr. 103: Odlišné strukturní znaky alkaloidů haemanthaminu a 11-hydroxyvittatinu v souvislosti s antiproliferativní aktivitou	66
Obr. 104: Strukturní odlišnosti alkaloidů buphanidrinu a distichaminu.....	69
Obr. 105: Strukturní odlišnosti alkaloidů narcipriminu, narciklasinu a pankratistatinu v souvislosti s jejich antineoplastickou aktivitou	70
Obr. 106: Strukturní rozdíly alkaloidů 11-O-acetylbambellinu, bambellinu a distichaminu v souvislosti s antiplasmodiální aktivitou	80

Obr. 107: Strukturní znaky alkaloidů lykorinu a assoaninu, jež ovlivňují míru jejich inhibiční aktivity vůči úhoří AChE	90
Obr. 108: Drobné strukturní odlišnosti alkaloidů buphanidrinu a distichaminu, které zřejmě nemají významný vliv na jejich antibakteriální aktivitu	94
Obr. 109: Příklad strukturního znaku benzo-1,3-dioxolu u alkaloidu buphanidrinu a SSRI paroxetinu pravděpodobně vysvětlující afinitu k SERT	95
Obr. 110: Mapa současných provincií JAR a orientačně vyznačených původních teritorií ze 17. století.....	95

1 ÚVOD

Lidé již od pradávna využívali rostliny k léčbě nemocí. Zpočátku bylo léčení zcela založeno na zkušenosti, postupně docházelo k odhalování důvodů pro užití specifických léčivých rostlin k léčbě určitých chorob [1]. Rostliny byly hlavním zdrojem profylaxe a léčby až do rozvoje iatrochemie v 16. století, kdy se stal jedním z prvních propagátorů přípravy chemických léčiv z rostlinných a minerálních surovin slavný alchymista a lékař Paracelsus [1, 2]. S progresivním vývojem chemických metod došlo na počátku 19. století v rámci izolace látek z léčivých rostlin k významnému objevu alkaloidů i dalších účinných chemických látek jako např. glykosidů, saponinů, tříslovin či éterických olejů [1]. Alkaloidy jsou nízkomolekulární sloučeniny odvozené z aminokyselin (AMK) obsahující ve své struktuře jeden nebo více bazických atomů dusíku, jež jsou obvykle součástí heterocyklu, případně aminoskupiny. Tyto alkalické látky tvoří přibližně 20 % všech rostlinných sekundárních metabolitů, jejichž funkcí je činit rostliny konkurenceschopnými v jejich vlastním prostředí [3, 4]. Předpokládá se, že biologické účinky alkaloidů mají vliv při klíčení a ochraně rostlin před predátory, jako jsou býložravci a mikrobi [4]. Alkaloidy se vyskytují v přibližně 20 % vyšších rostlin, produkují je ovšem i některá zvířata (např. některé druhy žab), bakterie či houby [3, 4].

Čeleď Amaryllidaceae J. St.-Hil. zahrnuje více než 2 340 vytrvalých, typicky v tropech a subtropech rozšířených druhů jednoděložných cibulovitých kvetoucích rostlin, které jsou klasifikovány do přibližně 80 rodů [5-7]. Tato čeleď je dále dělena do tří podčeledí: Allioideae, Agapanthoideae a Amaryllidoideae, přičemž zástupci poslední zmiňované podčeledi se vyznačují produkcí specifického typu isochinolinových alkaloidů (tzv. amaryllkovitých alkaloidů; AmA) [8, 9]. AmA vykazují řadu biologických účinků, které zahrnují antiproliferativní, antimikrobiální, antivirovou, antifungální, antiprotozoální aktivitu, inhibiční aktivitu vůči acetylcholinesterase (AChE) i další aktivity. Farmakologicky významným AmA je např. galanthamin, který byl úspěšně uveden na trh jako inhibitor AChE k léčbě Alzheimerovy choroby (AD), anebo alkaloidy haemanthaminového, lykorinového a narciklasinového strukturního typu, které byly využity jako výchozí sloučeniny ve výzkumu zaměřeného proti rakovině [8].

Zástupci čeledi Amaryllidaceae J. St.-Hil. jsou dodnes využívány domorodými obyvateli v tradiční medicíně, včetně těch žijících na území Jižní Afriky (JA), kde roste přibližně třetina druhů podčeledi Amaryllidoideae [5, 10]. K endemickým rodům JA z čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil., jejichž druhy byly studovány pro obsah amaryllkovitých alkaloidů, se řadí také rod *Amaryllis* L., *Ammocharis* Herb., *Boophone* Herb., *Brunsvingia* Heist., *Crinum* L. a *Cyrtanthus* Aiton.

Hlavní náplní této práce je vytvoření přehledu o fytochemických poznacích a biologické aktivitě alkaloidů izolovaných z těchto endemických rodů.

2 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Tato diplomová práce byla vytvořena za účelem zpracování přehledu alkaloidů doposud studovaných ve vybraných rodech čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil., které jsou endemické v Jižní Africe, a přehledu jejich biologické aktivity.

- 1** Přehled rodů čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. endemických v Jižní Africe
- 2** Přehled alkaloidů izolovaných z těchto endemických rodů
- 3** Souhrn současných poznatků o biologické aktivitě alkaloidů z těchto rodů.

3 ČELEĎ AMARYLLIDACEAE J.ST.-HIL.

Rostliny čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. jsou vytrvalé byliny s cibulemi, oddenky nebo hlízami. Čárkovité až eliptické, úzké, zploštělé, lysé listy se souběžnou žilnatinou jsou uspořádány v přízemní růžici na bázi stonku či vrcholu cibule, oddenku, případně hlízy, anebo mohou být i lodyžní. u některých rostlin čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. se ze zbylých pochev starých listů tvoří tzv. pseudostonek [11, 12]. Čepel listů je jednoduchá, celokrajná, lineární až kopinatá [11]. Stonek je většinou bezlistý stvol, ve vztahu k bazálním listům středový nebo postranní. Květy jsou jednotlivé, případně uspořádané v květenství, jímž kromě obvyklého okoličnatého květenství může být i klas, hrozen či lata [11]. Květenství bývá obklopeno zákrovem dvou nebo více (zřídka jen jedním) blanitých, opadavých listenů, květní listeny jsou malé [10, 11]. Květy jsou nápadné, tříčetné, oboupohlavné, pravidelné či souměrné s nerozlišeným okvětím, skládající se ze šesti na bázi do krátké nebo dlouhé trubky srostlých či jednotlivě volně uspořádaných okvětních lístků ve dvou kruzích (vnější i vnitřní kruh po třech okvětních lístcích) [11, 13, 14]. Vnitřní okvětní lístky mohou být menší či větší než ty vnější, anebo jsou všechny lístky podobné velikosti. Okvětní lístky jsou uloženy pod nebo obvykle nad semeníkem [11]. Může a nemusí být přítomna pakorunka (závit tvořený volnými nebo srostlými okvětními lístky, anebo srostlými nitkami, viz dále) [11, 15]. Šest tyčinek je organizováno do dvou kruhů po třech tyčinkách [11, 13, 14]. Nitky jsou volné, částečně srostlé s okvětím, anebo srůstají na bázi a mohou tak vytvářet pakorunku. Většinou mnohostranné, směrem dovnitř sklopené prašníky jsou k nitkám přichyceny bazálně nebo dorzálně a pukají podélně, vzácněji děrami [11]. Pestík je srostlý ze tří plodolistů a skládá se ze spodního třípouzdrého semeníku a z obvykle protáhlé, štíhlé čnělky se suchou hlavatou nebo třílaločnou, drobnou nebo protáhlou bliznou [10, 11, 13, 14]. Každá komůrka semeníku obsahuje jeden, dva až mnoho semínek s axilární placentací. Plodem jsou tobolky, anebo vzácněji bobule. Tobolky jsou obvykle pouzdrosečné nebo nepukavé, někdy dužnaté. Semena jsou hranatá, zploštělá nebo kulovitá, někdy okřídlená, s masitým endospermem a malým zárodkem [11]. Květy čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. odpovídají květnímu vzorci: \varnothing * slabě \downarrow P3+3 n. (3+3) A3+3 G(3) [13, 14]. Taxonomické zařazení čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. je znázorněno v (Tab. 1).

Říše	Plantae (Rostliny)
Kmen	Angiospermae (Krytosemenné)
Třída	Liliopsida (Jednoděložné)
Řád	Asparagales (Chřestotvaré)
Čeleď	Amaryllidaceae J.St.-Hil. (Amaryllkovité)

Čeleď Amaryllidaceae J.St.-Hil. je kosmopolitní a dle nejaktuálnějších dat k červnu 2024 zahrnuje více než 2 340 vytrvalých druhů, které jsou klasifikovány do přibližně 80 rodů [6, 11]. Většina z nich je soustředěna v JA, další menší část pak v andské oblasti Jižní Ameriky a některé rody se nacházejí i na území severní polokoule, konkrétně např. rod *Narcissus* L., *Leucorum* L. a *Galanthus* L. [7, 18]. Mezi rody rozšířené v JA patří např. rod *Clivia* Lindl., *Crinum* L., *Cyrtanthus* Aiton, *Nerine* Herb. a *Scadoxus* Raf. V Jižní Americe je hojný rod *Hippeastrum* Herb., jenž je někdy mylně označován jako *Amaryllis* L. *Amaryllis* L. je samostatným rodem nazvaným po krásné pastýřce z řecké mytologie [18]. Namísto pravých cibulí mají některé rody jako *Cryptostephanus* Welw. ex Baker či *Clivia* Lindl. a také některé druhy rodu *Scadoxus* Raf. oddenky. Čeleď Amaryllidaceae J.St.-Hil. je dále rozdělena do tří podčeledí – Amaryllidoideae, Agapanthoideae a Alliioideae. Zejména podčeleď Amaryllidoideae je významná z hlediska obsahu alkaloidů [8].

3.1 Podčeleď Amaryllidoideae

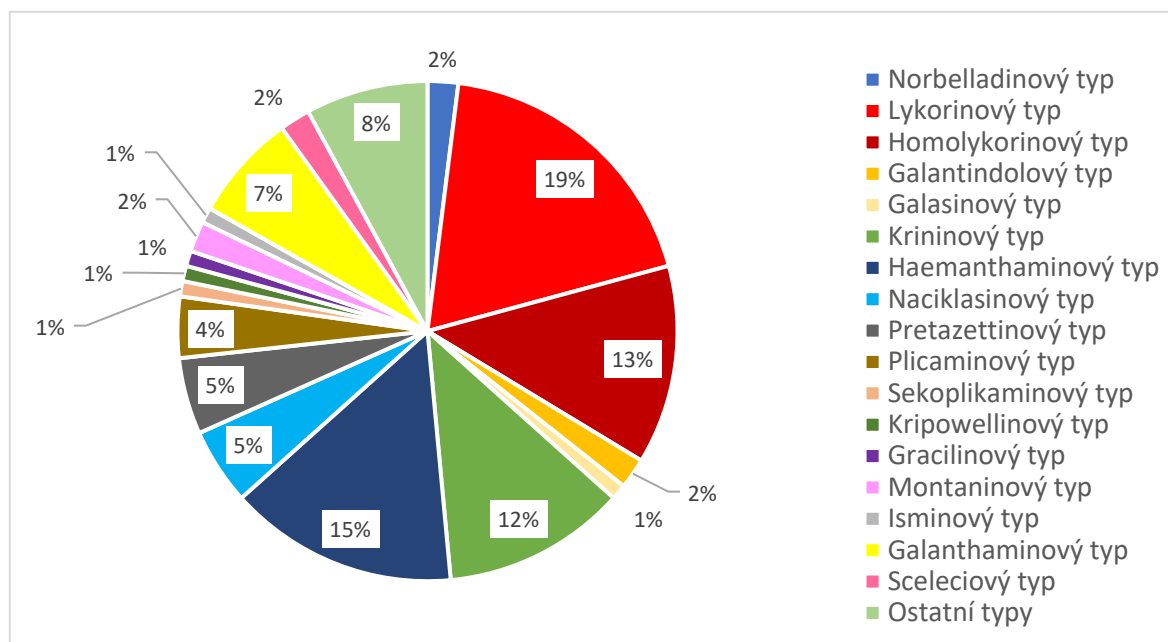


Obr. 1: Mapa rozšíření podčeledi Amaryllidoideae [10]

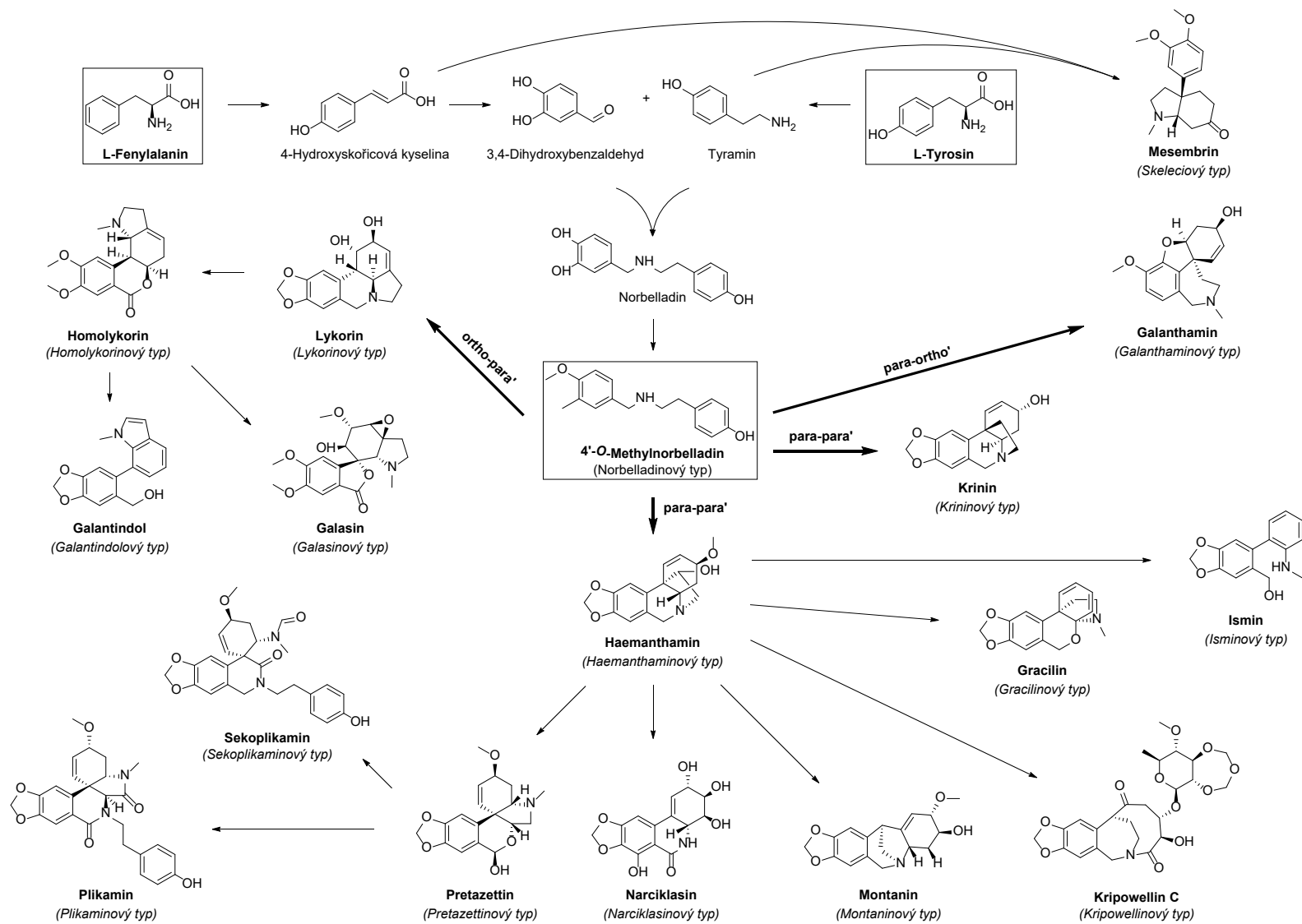
Výrazným chemotaxonomickým znakem podčeledi Amaryllidoideae je produkce specifických AmA [7, 8]. Existuje více než 600 různých struktur AmA [8]. Tento charakteristický typ isochinolinových alkaloidů vzniká tzv. norbelladinovou biosyntetickou cestou, která vychází z aromatických AMK L-fenylalaninu (L-Phe) a L-tyrosinu (L-Tyr) [7, 19]. Klíčový meziprodukt pro většinu strukturních typů AmA (4'-O-methylnorbelladin) je vytvářen kondenzací tyraminu a 3,4-dihydroxybenzaldehydu za vzniku Schiffovy báze, která je posléze redukována na norbelladin, jehož hydroxylová skupina na uhlíkovém atomu C4' je v poslední fázi methylována. Tyramin vzniká pouhou dekarboxylací L-Tyr, zatímco syntéza 3,4-dihydroxybenzaldehydu začíná deaminací L-Phe za vzniku kyseliny *trans*-skořicové, která je následnou hydroxylací na uhlíkovém atomu C4 převedena na kyselinu 4-hydroxyskořicovou, a ta je nakonec enzymaticky přetransformována až na finální produkt [8]. Tímto způsobem dochází k tvorbě prvního z devíti hlavních strukturních typů AmA (norbelladinový typ). Díky třem alternativním cestám oxidativního fenolického spojení 4'-O-methylnorbelladinu (*ortho-para'*, *para-ortho'* a *para-para'*) lze rozlišit dalších osm hlavních strukturních typů. Prvním možným spojením *ortho-para'* jsou tvořeny sloučeniny lykorinového strukturního typu, z něž jsou dále odvozeny

struktury homolykorinového typu. Druhá možnost spojení *para-ortho* dáva vznik pouze galanthaminovému strukturnímu typu a z posledního možného spojení *para-para* pochází strukturní typ krininový, haemanthaminový, pretazettinový, narciklasinový a montaninový [8, 19]. Většina AmA je klasifikována podle svého skeletu právě do těchto výše zmíněných devíti hlavních strukturních typů. Ostatní typy skeletu zastoupené jen několika sloučeninami byly done dávna klasifikovány do jedné společné kategorie různé typy. Izolace dalších nových sloučenin však následně vedla k reklasifikaci AmA. Mezi nově zavedené strukturní typy se řadí např. galathindolový a galasinový typ (odvozeny z homolykorinového typu), plikaminový a sekoplikaminový typ (odvozeny z pretazettinového typu), kripowellinový, gracilinový či isminový typ (zřejmě odvozeny z haemanthaminového typu) [8]. V některých rostlinách čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. se vyskytuje skeleciový typ alkaloidů, který vzniká vazbou tyraminu s kyselinou 4-hydroxyskořicovou, což vede k Ar-C3-N-C2-Ar meziprojektu. Příkladem rostliny, u níž převládá syntéza alkaloidů skeleciového typu, a která naopak postrádá tvorbu typických AmA, je *Narcissus triandrus* L. Tato skutečnost je pravděpodobně způsobena zablokováním biosyntetické dráhy ve fázi, kdy je z kyseliny 4-hydroxyskořicové tvořen 3,4-dihydroxybenzaldehyd, a to v důsledku mutace genů kódujících příslušné enzymy [8]. Zjednodušené schéma biosyntézy strukturních typů AmA je znázorněno na (Obr. 3).

Přibližně třetina druhů podčeledi Amaryllidoideae (okolo 240–280 druhů) roste v JA, a cca 85 % z nich se nenachází nikde jinde [10]. Procentuální zastoupení jednotlivých strukturních typů AmA je znázorněno v následujícím grafu na (Obr. 2).



Obr. 2: Graf procentuálního zastoupení jednotlivých strukturních typů AmA [8]



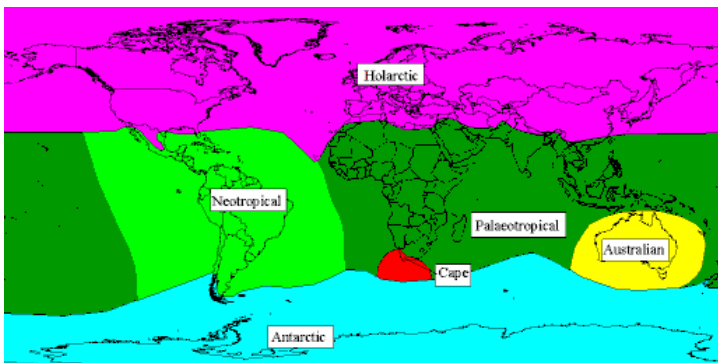
Obr. 3: Zjednodušené schéma biosyntézy základních strukturních typů AmA [8, 20]

4 RODY ENDEMICKÉ V JIŽNÍ AFRICE

Jedním z cílů této diplomové práce bylo zpracovat přehled rodů čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. endemických v JA. Ne vždy se všichni zástupci níže uvedených rodů přirozeně vyskytují na daném území – některé druhy přesahují svým výskytem do Severní Afriky (na sever od rovníku), jiné se přirozeně nacházejí na jiném kontinentu. Pro tuto práci bylo dohodnuto zpracovat ty rody rostlin, u nichž se význačná část jejich druhů (z pohledu četnosti nebo alkaloidové rozmanitosti či významnosti) nachází na území JA. Jedná se o rody: *Amaryllis* L., *Am-mocharis* Herb., *Boophone* Herb., *Brunsvingia* Heist., *Crinum* L. a *Cyrtanthus* Aiton. Vybrané endemické druhy z těchto rodů, významné pro obsah biologicky aktivních alkaloidů, jsou v této práci podrobněji rozebrány i z pohledu anatomie, morfologie a výskytu. Pro lepší orientaci v geografických pojmech uvedených v této práci jsem si dovolila zahrnout i stručný přehled geografických oblastí Jihoafrické republiky (JAR), v nichž se nachází většina dále zmiňovaných endemických druhů.

4.1 Geografické oblasti a hortikulturní zóny Jihoafrické republiky

Vegetaci Země je možné rozčlenit do šesti světových květinových říší, které se od sebe navzájem odlišují rozdílnými soubory kvetoucích rostlin, přičemž se zohledňují zejména rostliny, které nelze nalézt v žádné jiné říši (jedná se o endemity). Jednou z takových květinových říší je právě Kapská květinová říše (Obr. 4) zaujímající pouze zlomek světového povrchu (0,08 %), avšak obsahující cca 3 % veškerých světových rostlin [21].



Obr. 4: Mapa světových květinových říší [21]

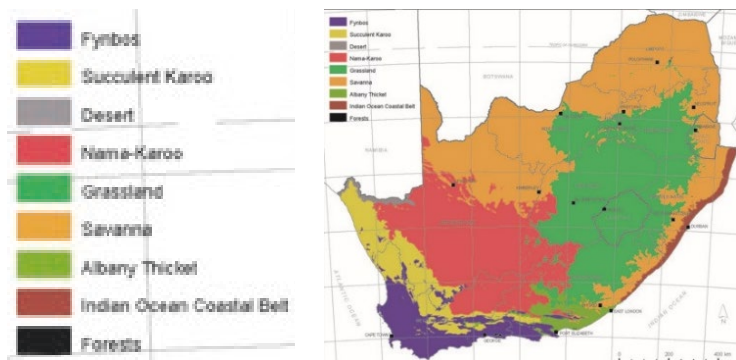


Obr. 5: Provincie JAR [22]

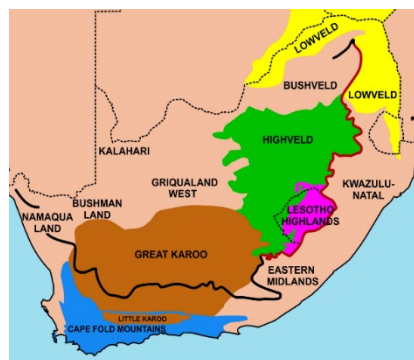
4.1.1 Provincie a biomy Jihoafrické republiky

JAR lze rozdělit na různé geografické oblasti podle několika rozdílných kritérií. Dle administrativního dělení se JAR skládá z devíti provincií (Západní Kapsko, Severní Kapsko, Východní Kapsko, KwaZulu-Natal, Svobodný stát, Severozápadní provincie, Gauteng, Mpumalanga a Limpopo), viz výše (Obr. 5) [22]. Dále je možné geografické oblasti JAR rozdělit do devíti různých biomů (Fynbos, Sukulentní Karru, Pouštní biomy, Nama-Karru, Albany Thicket, Pobřežní pás Indického oceánu, biomy Pastvin, biomy Savan a biomy Lesů) zobrazených na (Obr. 6)

níže [21]. Za účelem přiblížení území výskytu endemických druhů rostlin uvedených v této práci, jsou dále stručně popsány tři vybrané biomy a tři geografické oblasti.



Obr. 6: Biomy JAR [21]



Obr. 7: Doplňující geografické oblasti JA [23]

4.1.1.1 Veld, Namaqualand a Velké Karro

Pojem veld je označením pro různé typy otevřené krajiny v JA, jež jsou místními farmáři využívány zejména pro účely zemědělství a pastvy. V závislosti na nadmořské výšce se jednotlivé typy veldu rozlišují na tzv. high veld, middle veld a low veld, a podle převažující vegetace zase na bush veld, thorn veld či grass veld (Obr. 7) [24]. Dále je na témže obrázku také vyznačena část pouštní oblasti Namaqualand, která ovšem zasahuje i do jižní až jihozápadní části Namibie, a oblast Velkého Karro (náhorní plošina s rozsáhlými polopouštěmi a suchými travinami) [25, 26].

4.1.1.2 Biom Fynbos

Prakticky celé území biomu Fynbos je součástí výše uvedené Kapské květinové říše. Tento biom je tedy známý svou vysokou rostlinnou diverzitou a endemismem. Nachází se zde přes 7 000 druhů rostlin, z nichž většina je endemických. Pro tento biom jsou charakteristické i pravidelné sezónní požáry (cyklus se opakuje po 6-45 letech), které jsou důležité pro obnovu vegetace. Hlavními hrozbami pro místní rostlinstvo jsou invazní druhy rostlin, rozšiřování měst a zemědělských ploch, a narušení přirozeného výskytu požárů (požáry vznikají v nesprávném vegetačním období, např. na jaře, anebo příliš často, aniž by byly rostliny schopny včas vyprodukovat semena) [27].

4.1.1.3 Biom Pastvin

Reliéf tohoto biomu je převážně plochý až zvlněný. Typické travnaté porosty (označované také jako grass veld) jsou charakteristické pouze jedním bylinným patrem sestávajícím se převážně z trav. Stromy s výjimkou několika ojedinělých stanovišť v biomu pastvin chybí. Hustota porostu závisí na intenzitě srážek a pastvy. Tento biom se podobně jako biom Fynbos vyznačuje vysokou biodiverzitou, a to zejména v oblastech svahů, kde se vyskytují vzácné ohrožené druhy včetně endemických geofytů [28]. Geofyty jsou jedním ze dvou typů vytrvalých

rostlin, jejichž specializované orgány nesoucí obnovovací pupeny se nachází pod zemí, kde přečkávají nevýhodné chladné zimní období. Geofyty se od hemikryptofytů (druhého zmiňovaného typu) liší přítomností cibulí či hlíz namísto oddenků jakožto specializovaných podzemních orgánů a hlubším umístěním obnovovacích pupenů v půdě, díky čemuž dokáží přežít i v chladnějších oblastech [29].

4.1.1.4 Biom Albany Thicket

Biomu Albany Thicket dominují především stálezelené, sukulentní stromy, keře či liány, z nichž mnohé mají trny. Od biomu lesů se odlišuje nižší výškou vegetace a často téměř neprostupnými křovinnými porosty. Nezapadá ovšem ani do biomu savan, jelikož hustý křovinný porost do značné míry znemožňuje růstu travinám spodního bylinného patra. Oproti jiným biomům je chudý na přítomnost endemických druhů [30].

4.1.2 Hortikulturní zóny

JAR lze také rozdělit podle klimatických podmínek do pěti hortikulturních zón (Obr. 8). Zóna 1 vyznačuje východní pobřežní oblast ovlivněnou přítomností teplého Indického oceánu. Typické jsou zde letní srážky a suché bezmrazé zimy (průměrná minimální teplota v nejchladnějším měsíci se pohybuje v rozmezí 5-10 °C). Zóna 2 znázorňuje jižní pobřežní oblast s charakteristickými silnými letními jihovýchodními větry a zimními srážkami. Podobně jako pro pobřežní zónu 1 není ani pro zónu 2 typický celoroční mráz (nejnižší teploty v rozmezí 0-10 °C). Případné mrazy bývají jen krátké a velmi slabé. Půdy této oblasti bývají chudé na živiny, proto se v této zóně daří zejména subtropickým rostlinám. V zóně 3 zasahující do oblasti Karu a Namaqualandu jsou běžné zimní srážky, slabý mráz (nejnižší teploty v rozmezí - 5 °C až 5 °C) a půdy bohaté na minerály. V zóně 4, zahrnující oblasti Karu a high veld, jsou typické letní srážky, suché zimy a mráz (i pod - 5 °C). Poslední zóna 5 v oblasti bush veld je charakteristická suchými, mírnými zimami (průměrně - 5 °C až 0 °C), a letními srážkami, přičemž severní a západní části této zóny bývají sušší a chudší na srážky než část východní [31].



Obr. 8: Hortikulturní zóny JA [31]

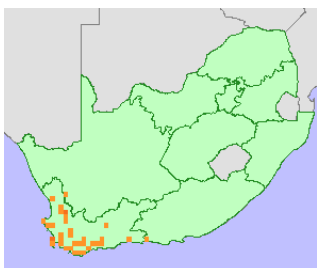
4.2 Rod *Amaryllis* L.

Tento rod zahrnuje tři akceptované druhy, z nichž dva se přirozeně nachází pouze na území JAR [32, 33]. Jedná se o druhy: *Amaryllis belladonna* L. a *Amaryllis paradisicola* Snijman [32].

Charakteristickými morfologickými znaky rodu *Amaryllis* L. jsou obvykle párové přisedlé, lineární listy, dva listeny a okoličnaté květenství čítající 1-13 stopkatých souměrných květů. Okvětní lístky bývají srostlé do rozšířené okvětní trubky. V okvětní trubce jsou umístěny tyčinky, zpravidla zahnuté směrem dolů a pak nahoru, s pohyblivými prašníky. Pěstíky mají čárkovité blizny, nitkovité, trojklanné čnělky, jež jsou podobně jako tyčinky nejprve zakřivené směrem dolů, a poté nahoru, a semeníky obsahující mnoho vajíček v každé komůrce. Plodem jsou pouzdrosečné tobolky nesoucí diskovitá, křídlatá semena [34].

4.2.1 *Amaryllis belladonna* L.

Jedná se o druh endemický v JAR rostoucí v jižní části provincie Západní Kapsko (Obr. 9), kde se vyskytuje v malých hustých skupinách mezi kameny [18]. Tento až 90 cm velký geofyt dává přednost stanovištím na plném slunci s vlhkou, prostupnou půdou jako jsou křovinaté svahy či břehy řek [35, 36]. Nepřežívá v nevhodných podmínkách jako je mráz či přílišné sucho [36].



Obr. 9: Mapa výskytu
A. belladonna L. v JAR [37]



Obr. 10: *A. belladonna* L.
– cibule [38]



Obr. 11: *A. belladonna* L.
v květu [36]

Cibule je hnědá, zakulacená, s 5-8 cm v průměru, krytá tuhou blanitou slupkou (Obr. 10). Z ní vyrůstá pevný, okolo 30-45 cm vysoký, šedofialový až červenohnědý a k základně šedavý, nahoře zelený stvol nesoucí obvykle 6-12 světle až tmavě růžových nebo téměř bílých, pravidelných, trubkovitých vonících květů se světle citrónově žlutým hrdlem. Toto okoličnaté květenství je obklopeno dvěma purpurově červenými, 5-8 cm dlouhými listeny. Květy se rozevírají do šířky přibližně 8 cm a mají tendenci vyrůstat směrem, kde během dne přijímají nejvíce slunce a jsou tedy často všechny obrácené na jednu stranu (Obr. 11). Okvětí jsou 7-11 cm dlouhá, z čehož přibližně 1 cm připadá na okvětní trubku a zbylé centimetry na volné segmenty okvětních lístků, přičemž tři vnější okvětní lístky bývají mírně užší, anebo naopak mírně širší než ty vnitřní [18, 35].

Každý jednotlivý květ má jeden dlouhý, na konci směrem nahoru zakřivený pestík, jenž je obklopen skupinou šesti obdobně tvarovaných tyčinek (Obr. 12). Tyčinky ani pestík nepřerůstají okvětní lístky. Černé, lesklé prašníky (Obr. 13) po rozpuku obnažují velké množství bílého pylu. Hlavní opylovače květů představují včely. *A. belladonna* L. klasicky vykvétá na konci léta, případně i v únoru a březnu. Během květu jsou květní stopky 3-6 cm dlouhé, po opylení květů se však prodlužují až na 14 cm. Plodem jsou kulovité membranózní tobolky, obsahující pár hladkých, masitých, bílých až růžových cibulovitých semen. Semena jsou obvykle rozšiřována větrem během prvních zimních dešťů na konci března a dubna. Stvol *A. belladonna* L. přetrvává ještě dlouhou dobu po dozrání semen. Klíčení semen *A. belladonna* L. může započít již za dva týdny, ale nově vznikajícím cibulím pak trvá 3-6 nebo i více let, než budou schopny samy kvést [18, 35].



Obr. 12: *A. belladonna* L. – detail květu [39]



Obr. 13: *A. belladonna* L. – černé prašníky [18]



Obr. 14: *A. belladonna* L. – listy [39]

Z krčku cibule vyrůstá 5-11 zelených, vzpřímených, řemenovitých, úzce až široce kopinatých, 30-45 cm dlouhých, 1-2 cm širokých listů se středním vystouplým žebrem (Obr. 14). Objevují se až na podzim po odkvětu, zůstávají zelené po celou zimu a odumírají po zimních deštích před dalším květem. V období květu jsou suché nebo chybí, během zimního období produkují škrob, jenž se ukládá v cibuli [18, 35].

4.2.2 *Amaryllis paradisicola* Snijman

Tento extrémně vzácný endemický druh (Obr. 16) lze nalézt pouze ve dvou malých subpopulacích o přibližně 1000 jedincích na nepřístupných skalních římsách severozápadní části provincie Severní Kapsko (Obr. 15). Potenciálním ohrožením tohoto zranitelného druhu může být sběr místními obyvateli pro léčebné účely a poškození v důsledku působení pavíánů při hledání potravy [40]. *A. paradisicola* se od *A. belladonna* odlišuje širšími (7-13 cm), jazykovitými listy, jež jsou během jejich vývoje po obou stranách pokryty krátkými, odstávajícími trichomy, které se stárnutím rostliny postupně řídnu. *A. paradisicola* se dále také od *A. belladonna* liší větším počtem (10-21) jednotně růžových květů bez krémově žlutého hrdla [41].



Obr. 15: Mapa výskytu *A. paradisiicola* Snijman v JAR [40]



Obr. 16: *A. paradisiicola* Snijman [40]

4.3 Rod *Ammocharis* Herb.

Rod *Ammocharis* Herb. zahrnuje sedm akceptovaných druhů rostlin [42]. Všechny těchto sedm druhů se přirozeně vyskytuje na Africkém kontinentu, z čehož šest z nich lze zařadit mezi jihoafrické endemity. Řadíme mezi ně: *Ammocharis angolensis* (Baker) Milne-Redh. & Schweick., *Ammocharis baumii* (Harms) Milne-Redh. & Schweick (Obr. 17), *Ammocharis coranica* Herb., *Ammocharis deserticola* Snijman & Kolberg, *Ammocharis longifolia* (L.) Herb (Obr. 18) a *Ammocharis nerinoides* (Baker) Lehmillier (Obr. 19), přičemž *A. coranica* Herb. je z těchto šesti endemických druhů nejrozšířenější [43-45].



Obr. 17: *A. baumii* (Harms) Milne-Redh. & Schweick [46]



Obr. 18: *A. longifolia* (L.) Herb [47]



Obr. 19: *A. nerinoides* (Baker) Lehmillier [48]

Druhy z rodu *Ammocharis* Herb. jsou cibulovité rostliny s přisedlými, řemenovitými listy nejčastěji srpovitého tvaru s nevýrazným středním žebrem a drsnými okraji, uspořádanými ve dvou protilehlých vějířích. Konce listů bývají neporušené. Pevné stvolky rostlin jsou zakončené okolíčnatým květenstvím tvořeným 3-60 květy, které jsou podepřeny dvěma volnými listy. Semena bývají dužnatá, téměř zakulacená, světle zelené barvy a často klíčí ještě uzavřená v plodu. v každém pouzdře semeníku se vytváří 4-30 vajíček. Vzpřímená čnělka je dlouhá s malou, papilózní, nerozdělenou bliznou. Plodem bývají nepukavé, anebo nepravidelně se otevírající blanité tobolky. Krátce stopkaté, pravidelné, vzpřímené květy mají okvětní lístky srostlé do dlouhé úzké trubky, která se rozšiřuje ve stejně dlouhé, zahnuté, čárkovité až kopinaté volné segmenty okvětních lístků. Tyčinky přibližně stejné velikosti se skládají z pohyblivých prašníků a vláknitých nitěk, vyrůstajících ze spodní části volných segmentů okvětních lístků [45].

4.3.1 *Ammocharis coranica* Herb.

Tento v květu až 35 cm vysoký, v létě rostoucí geofyt se přirozeně vyskytuje na území rozkládajícím se od jižní části Angoly přes Namibii až po Zimbabwe a ve všech provinciích JAR (Obr. 20). Dokáže přežívat i v jílovitých půdách, preferuje však půdy písčité a otevřené rovné plochy na plném slunci zejména v suchých oblastech JA [44, 49]. V období vegetačního klidu si *A. coranica* Herb. ukládá zásobní látky do své cibule, díky čemuž tak dokáže přežít i dlouhá období sucha [44].



Obr. 20: Výskyt *A. coranica* Herb. v JA [43]

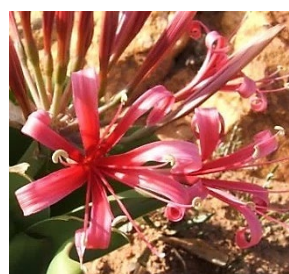


Obr. 21: *A. coranica* Herb. – listy [43]

Vejčité, až 16 cm široké a 25 cm dlouhé, cibule jsou pokryté vrstvou vnějších tenkých, lesklých, hladkých, suchých hnědých slupek. Z každé cibule vyrůstá 9-15 zelených až našedlých, plochých, hladkých, pruhovaných, řemenovitých listů zahnutých do srpovitěho tvaru, s velice jemně krátce třásnitými okraji (Obr. 22) a tupou zaschlou, na konci jakoby uřatou špičkou. Listy obvykle leží zkroucené na povrchu země (Obr. 21) a jejich délka (2,5-45 cm) i šířka (0,5-7,5 cm) je velmi variabilní. Podobně je tomu tak i u délky (6-35 cm) vzpřímeného, hladkého stvolu, jenž je zakončen úzce kopinatými, ostrými, papírovitými, 3,5-8,5 cm dlouhými a na bázi 1,2-3,0 cm širokými listeny chránícími vyvíjející se okoličnaté květenství [44, 49].



Obr. 22: *A. coranica* Herb. – detail listů [50]



Obr. 23: *A. coranica* Herb. – detail květu [44]

Zakulacené 15-20 cm široké okoličnaté květenství nese 3-55 světle růžových, sytě červenorůžových či až měděně nebo karmínově hnědých, trubkovitých, lesklých květů (Obr. 25). Květy se zpravidla začínají objevovat až po listech v podzimním a zimním období (říjen-únor) a jejich sladká vůně je intenzivnější v noci, aby k sobě rostlina nalákala noční můry (své

přirozené opylovače). Každý květ se skládá z cylindrické, 0,8-2,5 cm dlouhé okvětní trubce a z 2,8-5,5 cm dlouhých a přibližně 0,5 cm širokých volných segmentů okvětních lístků, rozšiřujících se směrem od báze a spirálovitě se zakřívujících dozadu směrem k vrcholu (Obr. 23). Květní stopky bývají podobně dlouhé anebo delší než okvěť (okolo 4-5 cm) [44, 49].



Obr. 24: *A. coranica* Herb. – plody [50]



Obr. 25: *A. coranica* Herb. v květu [44]

Cylindrický či soudkovitý, 0,6-1,2 cm dlouhý semeník bývá mírně širší než květní stopka a okvětní trubka a na každou jeho komůrku připadá 6-29 vajíček. Nitkovitá, karmínová čnělka podobně jako tyčinky vyčnívá 3,5-5,5 cm z okvětní trubky. Tyčinky jsou vzpřímené, v květu rovnoměrně rozprostřené a mají podobnou velikost jako čnělka (karmínově zbarvené 3-4,5 cm dlouhé nitky s výrazně zakřivenými 0,5-0,7 cm dlouhými prašníky) [49]. Plodem je neprůhledná, 2-5 cm velká papírovitá tobolka (Obr. 24). Tupě zaoblená, přibližně 1,5 cm velká, velmi masitá semena pokrytá tenkou membránou nezřídka začínají klíčit, i když jsou stále ještě uzavřená v tobolce [44, 49]. K šíření semen na větší vzdálenosti od mateřské rostliny napomáhá vítr, díky němuž se z kutálejšího seschlého okolíčnatého květenství postupně uvolňují semena [44].

4.4 Rod *Boophone* Herb.

Do tohoto rodu se řadí celkově dva uznávané druhy, konkrétně *Boophone disticha* Herb. a *Boophone haemanthoides* F.M.Leight [51]. Obě rostliny jsou endemické v JA [52].

Jedná se o cibulovité rostliny s řemenovitými, přisedlými a na špičce tupými listy, které bývají uspořádané do dvou řad. Okolíčnaté květenství vyrůstá z vrcholu pevného stvolu. Bývá obklopeno dvěma volnými listy a ve většině případů nese více než 100 květů. Květy jsou nálevkovité, pravidelné a na bázi srostlé v okvětní trubku, která je kratší než jednotlivé volné segmenty okvětních lístků. V hrdle okvětní trubky jsou umístěny tyčinky mající vzpřímené, rovné nitky a pohyblivé prašníky. Pestík těchto rostlin se skládá z drobné blizny, nitkovité čnělky a třípouzdrého semeníku obsahujícím pouze pár vajíček v každém pouzdrě. Květní stopky se během tvorby plodu výrazně prodlužují. Plodem je pouzdrosečná tobolka s jedním dužnatým, kulovitým semenem [52].

4.4.1 *Boophone disticha* Herb.

B. disticha Herb. je široce rozšířena ve všech provinciích JAR a svým výskytem zasahuje až na území tropické Afriky (Obr. 26). Tento až 50 cm geofyt preferuje místa na plném slunci v dobře odvodněné, písčité půdě suchých pastvin i skalnatých svahů, především v letních dešťových oblastech. Snese sucho, ale netoleruje mráz [53-55].



Obr. 26: Výskyt *B. disticha* Herb. v JA [56]



Obr. 27: *B. disticha* Herb. – listy [54]

Cibule bývají 12-17 cm vysoké, mívají v průměru až 15 cm a jsou obaleny tlustou vrstvou vnějších slupek ze starých, suchých, membranózních listových bází. v přírodě bývají uloženy zcela pod zemí, anebo je část cibule s krčkem exponována nad povrch země. Název *disticha* označuje charakteristicky vzpřímené listy uspořádané do tvaru vějíře naskládané jeden na druhém po obou stranách cibule (Obr. 27). Těchto 5-20 lysých, kožovitých, šedo- až modrozelených, až 50 cm dlouhých a až 4 cm širokých, kopinatých, těsně žebrovaných, postupně do ostré špičky zúžených, mírně až hluboce žlábkovitých listů, s mírně až vysoce zvlněnými, anebo případně i zcela rovnými okraji se zpravidla vytváří až po odkvětu. Zástupci druhu *B. disticha* Herb. vyskytující se v letních dešťových oblastech jsou v zimním klidu a květou převážně od července do října, zatímco zástupci rostoucí v zimních dešťových oblastech jsou v letním klidu a květou od února do dubna [53-55, 57].



Obr. 28: *B. disticha* Herb. – okoličnaté květenství [54]



Obr. 29: *B. disticha* Herb. – detail květů [58]

Na vrcholu stvolu vyrůstajícího z cibule je 50-100 růžově, červenorůžově až purpurově zbarvených drobných květů uspořádáno do hustého, rozložitého, kulovitého okoličnatého květenství (Obr. 28). Stvol může být velmi krátký (cca 5 cm) až 30 cm vysoký, listeny obklopující okoličnaté květenství bývají 3,5-6 cm dlouhé a 1,5-3 cm široké. Květy zpravidla rozkvétají

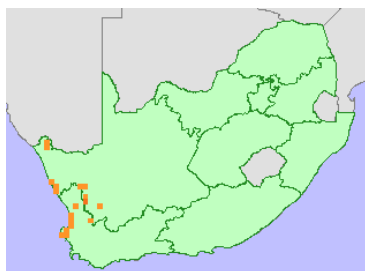
postupně, směrem od okrajů okoličnatého květenství k jeho středu, a během svého stárnutí tmavnou. Rozpuklé, sladce vonící, okolo 3 cm velké květy se skládají z úzké, nálevkovité, okolo 0,5-2 cm dlouhé okvětní trubky, která přechází v jednotlivé 2–3 cm dlouhé a 2-4 mm široké, směrem ke špičce zakřivené volné segmenty okvětních lístků s mírně dovnitř zahnutými okraji (Obr. 29). Délka tyčinek odpovídá délce okvětních lístků, nebo je trochu přesahuje. Prašníky jsou žluté, 2,5-3,5 mm dlouhé, nitky dorůstají 3-4,5 cm. Pestík obvykle mírně přesahuje tyčinky. Čnělka je červená, prohnutá, 5 cm dlouhá, semeník zelený, obkónický, do 4 mm dlouhý [53-55].

Hranaté, šedavé, během květu 3-8 cm dlouhé květní stopky se prodlužují po opylení květů až na 30 cm. Opylovače *B. disticha* Herb. představují včely, mouchy a často i mravenci. Plodem jsou 1,5-3 cm dlouhé a na konci 1-1,5 cm široké, hnědé, trojhranné, často sterilní tobolky s hladkými, kulatými, zelenými semeny s cca 3,5 mm v průměru. Po odkvětu se vytvořená okoličnatá plodenství odlamují v horní části stvolů a jsou roznášena přes veld, uvolňující semena [53-55].

Navzdory své dlouhověkosti a širokému rozšíření dochází podle Červeného seznamu jihoafrických rostlin k poklesu divoké populace *B. disticha* Herb. kvůli sklizni a prodeji divokých rostlin ve velkém množství na trzích tradiční medicíny, zejména v provinciích KwaZulu-Natal a Gauteng [53].

4.4.2 *Boophone haemanthoides* F.M.Leight.

B. haemanthoides F.M.Leight. je rozšířena v pásmu od jihozápadní Namibie po západní pobřeží Kapska a ve vnitrozemí po pohoří Roggeveld v západní části Great Karoo (Obr. 30). Tyto 30-50 cm velké geofyty se obvykle vyskytují v koloniích, jen málokdy jako izolované exempláře. Rostou na plném slunci především v pobřežních píscích a na vápencových, dole-ritových, zřídka na žulových skalních rovinách a svazích. Preferují především hluboké písčité půdy, ale daří se jim i v kamenitých či v hlinitých půdách. Přežívají v oblastech mírných, vlhkých zim s horkými suchými léty. Špatně snáší mráz [59, 60].



Obr. 30: Mapa výskytu *B. haemanthoides* F.M.Leight. v JAR [61]



Obr. 31: *B. haemanthoides* F.M.Leight. – cibule s listy [59]

Nejméně dvě třetiny cibule druhu *B. haemanthoides* F.M.Leight. se zpravidla nachází nad zemí (Obr. 31). Tyto vejčité nebo kulaté, až 18 cm velké cibule jsou obklopené vrstvami šedých nebo hnědých papírově tenkých vnějších slupek, které ji chrání před spalujícím letním horkem během období vegetačního klidu. Až 20 šedozelených, řemenovitých, celokrajných, 15-30 cm dlouhých a 5-10 cm širokých, plochých nebo mírně až hluboce žlábkovitých listů s rovnými či mírně až silně zvlněnými okraji a obvykle tupými špičkami je uspořádáno ve dvou protilehlých řadách do tvaru rozložitého vějíře. Nové listy se začínají tvořit koncem podzimu, v zimě se rychle prodlužují a koncem jara odumírají. Po odumření listů vyrůstá od začátku do poloviny léta ze středu cibule silný, kaštanově hnědý, růžovo hnědý či žlutý, 15-25 cm vysoký a okolo 3 cm široký stvol, později na své špičce nesoucí charakteristické okoličnaté květenství obklopené dvěma narůžovělymi nebo červenými, až 14 cm dlouhými a 5-8 cm širokými listy, které zůstávají polovzpřímené i během květu, zakřivují se směrem k tupému vrcholu [59, 60].

B. haemanthoides F.M.Leight. kvete od konce října až po začátek prosince. Název *haemanthoides* popisuje husté, kartáči podobné okoličnaté květenství (Obr. 32), připomínající květy rodu *Haemanthus* L. Sladce vonící šesticípé květy mají rovné, 5-7 mm dlouhé, šestihranné okvětní trubky přecházející v 3-5 cm dlouhé, 2 mm na bázi a 3-4 mm na špičce široké, pravidelné, čárkovité volné segmenty okvětních lístků (Obr. 33). Květy jsou zpočátku bílé, krémové nebo světle žluté, a teprve stárnutím přechází do matně růžové či načervenalé barvy. Tyčinky vyčnívají 1 cm či více přes volné segmenty okvětních lístků a mají štíhlé, vzpřímené, růžové nebo světle žluté nitky připojené k volným segmentům okvětních lístků kousek nad trubkou. Nezralé prašníky jsou kaštanově zbarvené. Čnělka bývá o 5-10 mm delší než tyčinky, blizna je malá, nenápadná, drobně papilózní, semeník obkónický, ostře zahnutý. K hlavním opylovačům se řadí včely a mouchy, patří k nim však i mravenci [59, 60].



Obr. 32: *B. haemanthoides* F.M.Leight.

– okoličnaté květenství [59]



Obr. 33: *B. haemanthoides* F.M.Leight.

– detail květů [58]

Jednotlivé květy kvetou pouze několik dní. Květní stopky se poté rychle prodlužují a vytvářejí kulovité okoličnaté plodenství složené z četných tříhranných papírově tenkých tobolek. Tobolky obsahují jedno až několik kulatých dužnatých semen, která jsou pokryta tenkou korkovou vrstvou, jež jim poskytuje ochranu během horkých měsíců, dokud s příchodem podzimu

nenastanou příznivé podmínky pro klíčení. Semena v tobolečkách dozrávají, dokud sama svou velikostí neprotrhnou tenké stěny tobolek, anebo dokud se celé zralé okoličnaté plodenství později neodlomí v horní části stvolu a není následně unášeno větrem, šíří semena [59].

Nově vznikajícím cibulím trvá vývoj k plné zralosti až deset let. Některé z nich pak přežívají i více než 100 let. Tento taxon je dle Červeného seznamu jihoafrických rostlin hodnocen jako málo dotčený díky svému širokému rozšíření. Avšak v důsledku obdělávání velkých ploch půdy zemědělci bylo mnoho z těchto rostlin již nenávratně zničeno [59].

4.4.2.1 *B. haemanthoides subsp. ernesti-ruschii* (Dinter & G.M.Schulze) G.D.Duncan & C.C.Tsang



Obr. 34: *B. haemanthoides subsp. ernesti-ruschii* (Dinter & G.M.Schulze)

G.D.Duncan & C.C.Tsang – cibule a listy [59]



Obr. 35: *B. haemanthoides subsp. ernesti-ruschii* (Dinter & G.M.Schulze)

G.D.Duncan & C.C.Tsang v květu [59]

Jako *B. haemanthoides subsp. ernesti-ruschii* (Dinter & G.M.Schulze) G.D.Duncan & C.C.Tsang se označuje vnitrodruhový taxon druhu *B. haemanthoides* F.M.Leight [62]. Tento poddruh se odlišuje od *B. haemanthoides* F.M.Leigh. relativně malými listy, kratšími okvětními lístky, které se více rozevírají ve fázi vrcholu květu, kratšími nitkami, krémově zbarvenými nezralými prašníky, pozdějším obdobím květu – od poloviny prosince do února, a zejména vnitrozemskou distribucí namísto pobřežní. *B. haemanthoides subsp. ernesti-ruschii* (Dinter & G.m.Schulze) G.D.Duncan & C.C.Tsang preferuje strmé, skalnaté horské svahy a rokly na plném slunci. Snáší i mírné mrazy [57].

4.5 Rod *Brunsvigia* Heist.

Tento rod zahrnuje 19 uznávaných druhů, přičemž všechny z nich jsou endemity JA [63, 64]. Rozšíření rostlin rodu *Brunsvigia* Heist. se rozkládá od pobřežních oblastí až po odlehlé, nepřístupné oblasti vnitrozemských srázů. Většina rostlin tohoto rodu dává přednost polosuchým oblastem na plném slunci s dobře propustnou půdou a více než polovina druhů se vyskytuje v oblasti zimních dešťů. Pouze několik druhů lze nalézt také v oblasti letních dešťů v provincii KwaZulu-Natal. Některé druhy upřednostňují specifické půdní substráty (např. písčité pláne či břidlicová, křemenná anebo dolomitová pásma), pár druhů zase sezónně dává přednost vlhkým proláklinám ve východní oblasti letních dešťů. Většina druhů tohoto rodu je

v přírodě hojně rozšířená [65]. Příkladem vzácných druhů je *B. elandsmontana* Snijman (Obr. 36, Obr. 39), *B. pulchra* (W.F.Barker) D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies (Obr. 37, Obr. 40), a *B. undulata* F.M.Leight (Obr. 38, Obr. 41) [64, 65].



Obr. 36: *B. elandsmontana* Snijman [66]



Obr. 37: *B. pulchra* (W.F.Barker) D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies [67]



Obr. 38: *B. undulata* F.M.Leight [67]



Obr. 39: Mapa výskytu *B. elandsmontana* Snijman v JAR [66]



Obr. 40: Mapa výskytu *B. pulchra* (W.F.Barker) D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies v JAR [68]



Obr. 41: Mapa výskytu *B. undulata* F.M.Leight v JAR [69]

Rostliny rodu *Brunsvigia* Heist. jsou teplomilné cibuloviny, z nichž většina má cibule uložené pod zemí, s výjimkou *B. herrei* F.M.Leight. ex W.F.Barker (Obr. 42) a *B. josephinae* [Ker-Gawl.] (Obr. 43), jež mají naopak cibule přibližně do poloviny uložené nad zemí. Slupky cibulí bývají typicky hnědé až hnědo bronzové, papírovité a křehké. Většina druhů má alespoň čtyři široké, podlouhlé, jazykovité listy. Výjimku tvoří druhy s malými cibulemi jako *B. comptonii* W.F.Barker (Obr. 44), *B. namaquana* D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies (Obr. 45) a *B. radula* W.T.Aiton (Obr. 46), které mívají pouze dva až tři listy, a druh *B. josephinae* [Ker-Gawl.] může mít naopak až 20 listů (Obr. 49). Listy většiny druhů jsou zpravidla hladké a leží naplocho na zemi (Obr. 50). Pouze u druhů *B. grandiflora* Lindl (Obr. 48), *B. josephinae* [Ker-Gawl.], *B. littoralis* R.A.Dyer (Obr. 47), *B. undulata* F.M.Leight a *B. herrei* F.M.Leight. ex W.F.Barker listy nejsou v kontaktu se zemí (Obr. 51), dva druhy z oblasti Namaqualand (*B. namaquana* D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies a *B. radula* W.T.Aiton) mají horní strany listů pokryty slámově zbarvenými trichomy (Obr. 52) a pro listy některých populací *B. nervosa* (Poir.) (Obr. 53)

v jižním Kapsku jsou typické měkké šupinové trichomy. V oblastech letních dešťů se vegetativní a květní fáze často překrývají, zatímco v oblastech zimních dešťů se listy zpravidla začínají tvořit až po odkvětu [65].



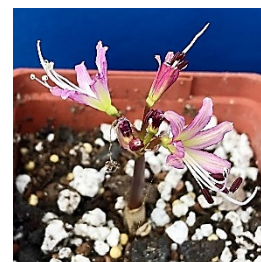
Obr. 42: *B. herrei*
F.M.Leight. ex W.F.Barker
[70]



Obr. 43: *B. josephinae*
[Ker-Gawl.] [70]



Obr. 44: *B. comptonii* W.F.Barker [71]



Obr. 45: *B. namaquana* D.Müll.-
Doblies & U.Müll.-
Doblies [67]



Obr. 46: *B. radula* W.T.Ai-
ton [67]



Obr. 47: *B. litoralis* R.A.Dyer
[70]



Obr. 48: *B. grandiflora* Lindl [71]



Obr. 49: *B. josephinae*
[Ker-Gawl.] – listy
[70]



Obr. 50: *B. bosmaniae*
F.M.Leight – poléhavé listy
[71]



Obr. 51: *B. herrei* F.M.Leight.
ex W.F.Barker
– listy nad zemí
[70]



Obr. 52: *B. namaquana* D.Müll.-
Doblies & U.Müll.-
Doblies – listy po-
kryté trichomy [67]



Obr. 53: *B. nervosa*
(Poir.) [67]

Většina druhů vytváří téměř dokonale kulovitá okoličnatá květenství díky rovným květním stopkám vybíhajícím směrem ven. Pouze tři druhy (*B. elandsmontana* Snijman, *B. marginata* (Jacq.) W.T.Aiton a *B. pulchra* (W.F.Barker) D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies) tvoří

kompaktní okoličnatá květenství podobná kartáči a pouze tři druhy (*B. josephinae* [Ker-Gawl.], *B. littoralis* R.A.Dyer a *B. orientalis* Ait. ex Eckl.) mají květní stopky pod každým květem ohnuté. Květy mohou nabývat různých barev od rubínově či jasně šarlatově červené přes sytě až po světle růžovou. Růžová barva květů je nejčastější. Červené květy jsou typické pro druhy *B. josephinae* [Ker-Gawl.], *B. littoralis* R.A.Dyer, *B. marginata* (Jacq.) W.T.Aiton (Obr. 54) a *B. orientalis* Ait. ex Eckl. (Obr. 55). Druhy *B. bosmaniae* F.M.Leight (Obr. 56) a *B. gregaria* R.A.Dyer (Obr. 57) mají na okvětních lístcích charakteristické tmavé žilky. Každý květ se skládá ze šesti okvětních lístků, které jsou buď na bázi srostlé do okvětní trubky, anebo jsou volné. Pro druhy s kompaktními hustými květenstvími jsou charakteristické nálevkovité, pravidelné květy, zatímco druhy s rozvolněnými květními stopkami v květenství mívají květy souměrné. Značně asymetrické květy (všechny okvětní lístky kromě jednoho se ohýbají směrem nahoru) mají *B. comptonii* W.F.Barker, *B. namaquana* D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies a *B. radula* W.T.Aiton. Květy všech druhů rodu *Brunsvigia* Heist. produkují nektar a často i voní. Přitahují tedy mnoho různých opylovačů. Noční motýly za soumraku přitahují květy *B. bosmaniae* F.M.Leight, ve dne denní motýli opylují květy *B. marginata* (Jacq.) W.T.Aiton a ptáci čeledi strdimilovitých se živí nektarem z květů *B. josephinae* [Ker-Gawl.], *B. littoralis* R.A.Dyer a *B. orientalis* Ait. ex Eckl. a tím též přispívají k jejich opylení. Doba kvetení rostlin rodu *Brunsvigia* Heist. je krátká a omezuje se jen na léto a podzim [65].



Obr. 54: *B. marginata* (Jacq.) W.T.Aiton [70]



Obr. 55: *B. orientalis* Ait. ex Eckl [67]



Obr. 56: *B. bosmaniae* F.M.Leight [71]



Obr. 57: *B. gregaria* R.A.Dyer [71]



Obr. 58: *B. radulosa* W.T.Aiton [67]

Světlá, lehká, kulovitá plodenství se po uschnutí oddělují od cibulí. Plodem jsou trojhranné či vřetenovité a často silně žebrované suché tobolky nesoucí semena bohatá na vodu. Právě trojhranné tobolky u mnoha druhů připomínají svým tvarem papírové draky, což

napomáhá okoličnatým plodenstvím kutálet se ve větru po zemi, a tím samotné tobolky rozlomit a rozptýlit tak semena [65].

4.6 Rod *Crinum* L.

Do tohoto rodu patří celosvětově celkově 116 uznávaných druhů přirozeně se vyskytujících v Americe, Africe, jižní Asii i Austrálii [12, 72]. Nejvíce druhů se nachází v Africe, přičemž více než 30 z nich se vyskytuje v JA (rostliny endemické pro ostrov Madagaskar nebyly do tohoto počtu zahrnuty) [12, 73, 74]. Kvůli složitému zkoumání usušených rostlin z herbáře panuje dodnes mezi odborníky nejistota ohledně přesného počtu druhů tohoto rodu. Druhy, které byly dříve považovány za jediný druh, se mohou skládat z několika odlišných, kvůli čemuž mohou být v různé literatuře používána odlišná jména [12].

Vzhledem ke značnému rozšíření rodu *Crinum* L. dávají jednotlivé druhy přednost různým prostředím. Některé lze nalézt v suchých oblastech, na svazích kopců i u okrajů lesů, jiné se vyskytují především u břehů řek a v oblastech, které jsou sezónně zaplavené, a několik druhů může být dokonce trvale ponořeno ve vodě. Semena těchto rostlin jsou dobře uzpůsobena na rozptýl pomocí vody, díky čemuž se mohou rozšiřovat i do větších vzdáleností První kvetení lze podle druhu očekávat po třech (př. *C. macowanii* Baker; Obr. 59) až osmi letech (př. *C. graminicola* I. Verd.; Obr. 60) [12, 73].



Obr. 59: *C. macowanii*
Baker [12]



Obr. 60: *C. graminicola*
I. Verd. [12]



Obr. 61: *C. campanulatum*
Herb. [12, 73]

Rostliny rodu *Crinum* L. jsou vytrvalé rostliny s velkými, směrem k vrcholu protáhlými cibulemi pokrytými vrstvou slupek. Čárkovité až mečovitě či řemenovité, celokrajné nebo kopynaté, ztlustělé listy bývají uspořádány do růžice, v ojedinělých případech do dvou protilehlých řad [12, 73]. Během zimy většinou usychají a opadávají, přičemž na jaře listy z předchozí sezóny znovu vyrůstají spolu s několika novými listy uprostřed. u těchto rostlin je typická tvorba pseudostonků ze zbylých pochev starých listů [12]. Při přetrhnutí listů je u nich možné pozorovat viditelná dlouhá vlákna [73].

Okoličnatá květenství se objevují po stranách na dlouhém, pevném stvolu a jsou složena z jednoho až několika květů a dvou velkých listenů. Květy, jež mohou být na stopkách nebo přisedlé, obvykle raší z jednoho centrálního bodu [12, 73]. Květy nálevkovitého tvaru jsou

pravidelné, případně výjimečně lehce nepravidelné, často bílé s červeným kýlem, ale vyskytují se i růžové a čistě bílé varianty. Skládají se z nejméně 6 cm dlouhé, úzké, rovné či zakřivené okvětní trubky a šesti a více lineárních, podlouhlých až široce kopinatých volných segmentů okvětních lístků [73]. Tyčinek je obvykle šest a jsou umístěny na bázi volných segmentů okvětních lístků. Nitky mohou mít zakřivené, rovné či skloněné dolů, prašníky jsou pohyblivé [12, 73]. Pestík je složen z malé hlavaté blizny, štíhlé, mírně polehlé čnělky a podlouhlého, třípouzdrého spodního semeníku s mnoha vajíčky [73]. Plodem jsou asymetrické tobolky s dužnatou či blanitou stěnou, které začnou po čase nepravidelně pukát a uvolňovat tak často již klíčící zakulacená či poněkud zploštělá až hranatá, nazelenalá či našedlá, hladká či papilózní semena [12, 73].



Obr. 62: *C. acaule*
Baker [12, 73]



Obr. 63: *C. bulbisperrum* (Brum.f.) Milne-Redh. & Schweick. [12, 73]



Obr. 64: *C. buphanoides* Welw. ex Baker [73, 75]



Obr. 65: *C. kirkii*
Baker [73, 76]



Obr. 66: *C. lineare*
L.f. [73, 77]



Obr. 67: *C. lugardiae*
N.E.Br. [12, 73]



Obr. 68: *C. minimum*
Milne-Redh. [73, 78]



Obr. 69: *C. moorei*
Hook.f. [73, 79]



Obr. 70: *C. paludosum*
I.Verd. [12, 73]



Obr. 71: *C. stuhlmanii* Baker [12, 73]



Obr. 72: *C. variabile* Herb. [73, 80]

4.7 Rod *Cyrtanthus* Aiton

Rod *Cyrtanthus* Aiton zahrnuje 58 uznávaných druhů, jež jsou všechny endemické v JA (Obr. 73) [81]. Jedinou drobnou odchylkou je *C. sanguinea* Walp. (Obr. 81), jež svým výskytem částečně zasahuje i na území jižního Súdánu (Obr. 75) [82]. Početné druhy rodu *Cyrtanthus* Aiton se nachází pouze na velmi malém vymezeném území (značná část z nich v JAR) [83, 84]. Neblaze k tomu přispívá především degradace jejich přirozených stanovišť za účelem rozšiřování měst a zemědělství a jistý vliv má i nadměrné spásání vegetace a šíření nepůvodních rostlinných druhů [83]. Jedná se např. o kriticky ohrožené druhy *C. guthrieae* L.Bolus (Obr. 78) a *C. leptosiphon* Snijman (Obr. 79), které lze nalézt pouze v jižní části Západního Kapska (Obr. 76-77) [83, 85, 86]. Nejširší rozšíření má *C. breviflorus* Harv. (Obr. 80), které zahrnuje všechny země jižně od rovníku kromě Gabonu, Konga, Ugandy, Burundi, Somálska, Namibie, Botswany a Mosambiku (Obr. 74) [83, 87].



Obr. 73: Výskyt rodu *Cyrtanthus* Aiton v JA [84]



Obr. 74: Výskyt *C. breviflorus* Harv. v JA [87]



Obr. 75: Výskyt *C. sanguinea* Walp. v JA [82]



Obr. 76: Výskyt *C. guthrieae* L.Bolus [86]



Obr. 77: Výskyt *C. leptosiphon* Snijman [85]

Jednotlivé druhy rodu *Cyrtanthus* Aiton dávají přednost různým půdním i klimatickým podmínkám. Jejich výskyt se rozprostírá od písčitých pobřežních plání, přes území sezónních močálů, až po skalnaté horské svahy [83]. v oblastech s letními dešťovými srážkami je mnoho druhů součástí biomu Albany Thicket, např. *C. obliquus* (L.f.) L.f. (Obr. 82), anebo oblasti Grassland, např. *C. tuckii* Baker (Obr. 83). v oblastech se zimními dešťovými srážkami se několik druhů typicky vyskytuje pouze v biomu Fynbos, např. *C. leucanthus* Schltr (Obr. 84) [83, 84]. Většina rostlin rodu *Cyrtanthus* Aiton preferuje prostředí, které je dobře větrané, a zároveň i dobře chráněné před přímým dopadem slunečního světla. Ideální jsou místa, kam slunce svítí

pouze ráno, anebo místa, která jsou během dne krytá lehkým stínem [83]. Určitým druhům, jako je např. *C. obliquus* (L.f.) L.f., se ovšem naopak daří na stanovištích na plném slunci [83, 84].



Obr. 78:
C. guthrieae L.Bolus
[83]



Obr. 79: *C. leptosiphon* Snijman
[85]



Obr. 80: *C. breviflorus* Harv. [88]



Obr. 81: *C. sanguinea* Walp. [83]

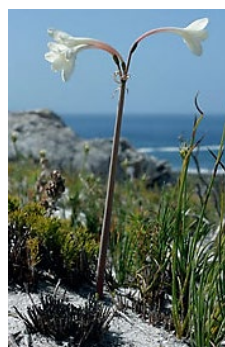
Rostliny rodu *Cyrtanthus* Aiton jsou 11-80 cm vysoké geofyty s úzce vejčitými či kulatými cibulemi pokrytými vnějšími papírovitými hnědými slupkami. Cibule mohou být částečně či zcela odkryté, anebo rostou pouze pod zemí. Rozmnožují se tvorbou dceřiných cibulek a pacibulek [83]. Přisedlé, čárkovité, kopinaté nebo řemenovité listy jsou vzpřímené či ohnuté do oblouku, vzácně spirálovitě stočené a tvoří se buď již během květu nebo až po odkvětu [83, 84]. Mohou být až 1,8 mm úzké, jako např. u *C. guthrieae* L.Bolus, anebo naopak až 6,5 cm široké a kožovité, jako např. u *C. obliquus* (L.f.) L.f. [83]. Listy buď vyrůstají jednotlivě, nebo mohou být uspořádány ve dvou protichůdných řadách do tvaru vějíře čítajícím až 16 listů [83, 84].



Obr. 82: *C. obliquus* (L.f.) L.f. [83]



Obr. 83: *C. tuckermanni* Baker [89]



Obr. 84: *C. leucanthus* Schltr. [90]



Obr. 85: *C. stenanthus* Baker
[83, 84]

Z jedné cibule, často ještě před rašením listů, vyrůstá jeden až několik dutých stvolů, nesoucích okoličnatá květenství obklopená dvěma listeny a složená z jednoho či více trubkovitých nebo nálevkovitých, vzpřímených či převislých pravidelných květů, bílé, krémové, žluté, oranžovočervené nebo růžové barvy, někdy zakončené nazelenalou špičkou [83, 84]. Každý

květ je v závislosti na druhu podepřen krátkou nebo dlouhou květní stopkou a skládá se z rovné, mírně nebo silně ohnuté a u některých druhů až 6,5 cm dlouhé okvětní trubky a rovných či zakřivených volných segmentů okvětních lístků [83]. v okvětní trubce nebo na bázi jednotlivých volných segmentů okvětních lístků je ve dvou řadách uspořádáno šest nestejných, rovných nebo zakřivených tyčinek s pohyblivými prašníky, které spíše zřídka výrazně vyčnívají z okvěti ven [83, 84]. Pestík je složen z hlavaté nebo třílaločné blizny, nitkovité, rovné či zakřivené čnělky a třípouzdrého semeníku s mnoha vajíčky uspořádanými ve dvou řadách v každém pouzdru [84]. Plodem jsou pouzdrosečné, podlouhlé, elipsovité či vejčité tobolky s lehkými, černými, zploštělými, oválnými semeny, která jsou obvykle opatřena papírovitým křídélkem (Obr. 86), díky němuž mohou být po podélném puknutí tobolky roznášena větrem na delší vzdálenosti od mateřské rostliny [83, 84].



Obr. 86: *C. flammosus* Sni-
jman & Van Jaarsv. – okřídlená
semena [83, 84]



Obr. 87: *C. ventricosus* Willd.
[83, 84]



Obr. 88: *C. elatus*
(Jacq.) Traub [83, 84]

Doba květu rostlin rodu *Cyrtanthus* Aiton se liší druh od druhu. Většina druhů kvete na jaře, v létě a na podzim, některé však vykvétají i v zimě. Velké množství druhů je zcela závislé na období zimních požárů. Jedná se zejména o některé v létě či na podzim kvetoucí druhy jako je *C. ventricosus* Willd. (Obr. 87). Jiné druhy kvetoucí především na jaře jako *C. breviflorus* Harv. a *C. tuckii* Baker sice na zimních požárech závislé nejsou, jejich kvetení je však vzniklými požáry výrazně podpořeno. Rostliny rodu *Cyrtanthus* Aiton jsou opylovány širokou škálou druhů hmyzu a ptactva. Múry a motýli dávají přednost zejména červeně, bíle a krémově zbarveným květům, ptáci čeledi strdimilovitých preferují květy oranžové či červené. Některé květy opylovače lákají i svou vůní [83].

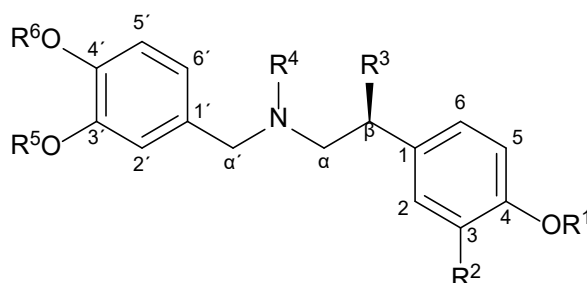
5 ALKALOIDY IZOLOVANÉ Z ENDEMICKÝCH RODŮ JIŽNÍ AFRIKY

AmA vykazují značnou chemodiverzitu. Modifikace jejich struktury je umožněna oxidací, redukcí, methylací, hydroxylací, kondenzací nebo tvorbou oxidových můstků po oxidativním fenolickém spojení [8]. Z alkaloidů izolovaných z rostlin endemických rodů JA uvedených v této práci převažovaly zejména zástupci lykorinového, krininového a haemanthaminového strukturního typu. Podařilo se ovšem vyizolovat i několik dalších alkaloidů následujících strukturních typů: norbelladinový, homolykorinový, galantindolový, narciklasinový, pretazetinový, montaninový, isminový, galathaminový a některé alkaloidy ze skupiny ostatních strukturních typů. Zmiňované alkaloidy, jejich zastoupení v jednotlivých vybraných endemických rodech JA, a jejich strukturní vzorce jsou pro přehlednost uvedeny v následujících přehledových tabulkách.

Legenda ke strukturním vzorcům a přehledovým tabulkám:

1. Symbol ♦ v přehledových tabulkách označuje rostlinný druh, z něhož byl daný alkaloid izolován.
2. Synonymní označení příslušného alkaloidu je odděleno lomítkem [8].
3. Látky označené symbolem (*) jsou potvrzenými či předpokládanými artefakty [8]

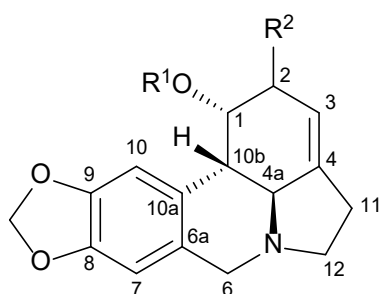
5.1 Norbelladinový typ



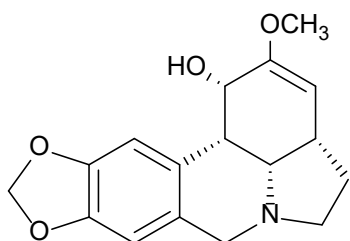
- | | |
|----------------------------------|---|
| 1. Belladin | $R^1=CH_3, R^2=R^3=H, R^4=R^5=R^6=CH_3$ |
| 2. 4'-O-methylnorbelladin | $R^1=R^2=R^3=R^4=R^5=H, R^6=CH_3$ |

Obr. 89: Strukturní vzorce alkaloidů norbelladinového typu

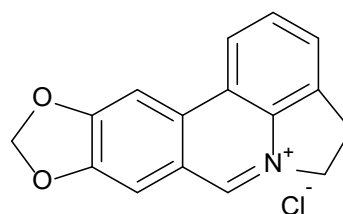
5.2 Lykorinový typ



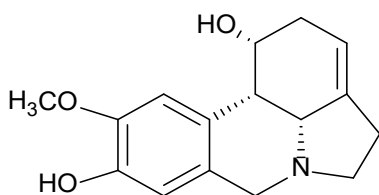
- | | | |
|----|-------------------------------|---------------------------------|
| 3. | Karanin | $R^1=H, R^2=H$ |
| 4. | 1-O-Acetylkaranin | $R^1=COCH_3, R^2=H$ |
| 5. | Lykorin | $R^1=H, R^2=\beta OH$ |
| 6. | 1-O-Acetylylykorin | $R^1=COCH_3, R^2=\beta OH$ |
| 7. | 1,2-O-Diacetylylykorin | $R^1=COCH_3, R^2=\beta OCOCH_3$ |
| 8. | 2-O-Acetylylykorin | $R^1=H, R^2=\beta OCOCH_3$ |



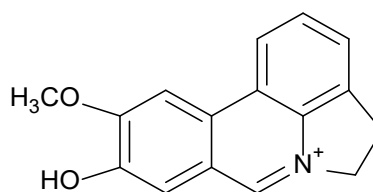
9. **Amarbellisin**



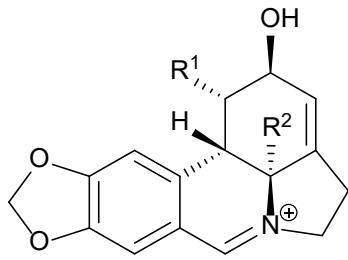
10. **Anhydrolykorinium chlorid**



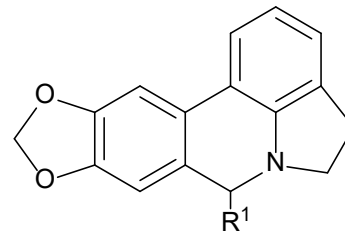
11. **Kirkin**



12. **8-O-Demethylvaskonin**

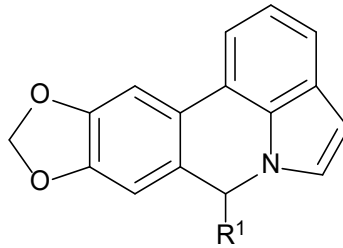


13. **Moorein**



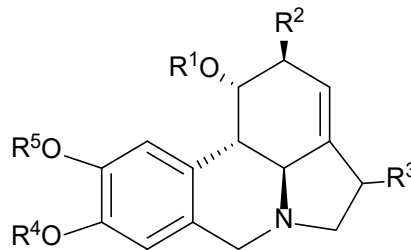
14. **Anhydrolykorin** $R^1=H$

15. **6-Oxoanhydrolykorin** $R^1=O$



16. **11,12-Didehydroanhydrolykorin** $R^1=H$

17. **Pratorin/Hippadin** $R^1=O$



18. **Golceptin**

$R^1=H, R^2=OH, R^3=R^4=H, R^5=CH_3$

19. **1-O-Acetyl-9-O-demethylpluviin**

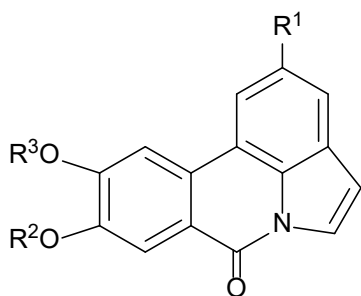
$R^1=COCH_3, R^2=R^3=H, R^4=CH_3, R^5=H$

20. **1-O-Acetyl-norpluviin**

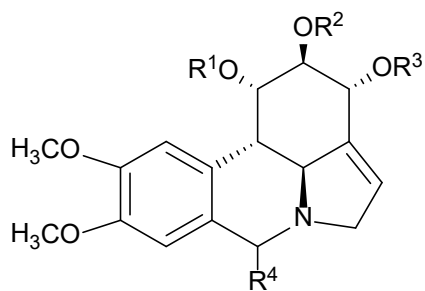
$R^1=COCH_3, R^2=R^3=R^4=H, R^5=CH_3$

21. **Sternbergin**

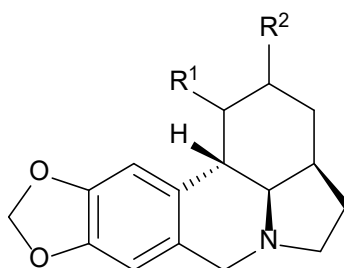
$R^1=COCH_3, R^2=OH, R^3=R^4=H, R^5=CH_3$



22. **Pratorimin** $R^1=H, R^2=CH_3, R^3=H$



23. **Narcissidin** $R^1=H, R^2=CH_3, R^3=R^4=H$

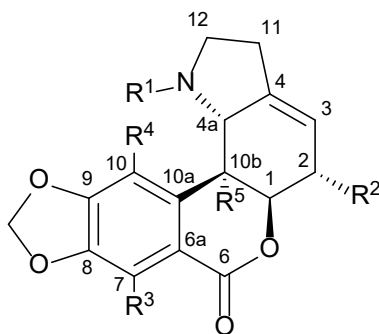


24. **Zephyranthin** $R^1=R^2= \alpha OH$

25. **1,2-O-Diacetylzephyranthin** $R^1=R^2= \alpha OH$

Obr. 90: Strukturní vzorce alkaloidů lykorinového typu

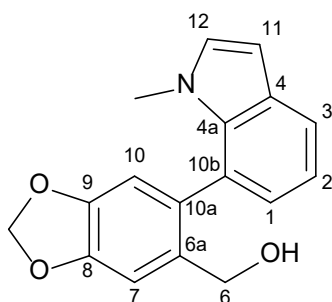
5.3 Homolykorinový typ



26. **Hippeastrin** $R^1=CH_3, R^2=OH, R^3=R^4=R^5=H$

Obr. 91: Strukturní vzorce alkaloidů homolykorinového typu

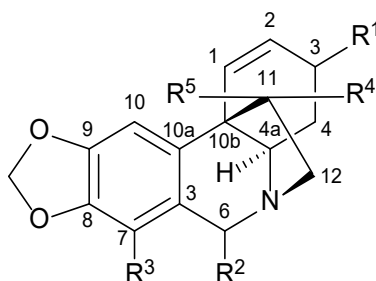
5.4 Galantindolový typ



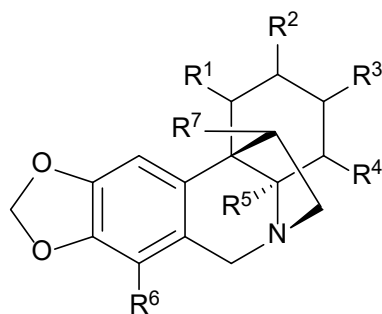
27. Galantindol

Obr. 92: Strukturní vzorce alkaloidů galantindolového typu

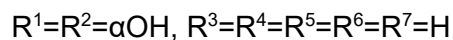
5.5 Krininový typ



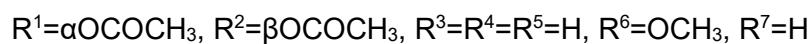
- | | |
|------------------------------------|---|
| 28. Ambellin | $R^1=\alpha\text{OCH}_3, R^2=\text{H}, R^3=\text{OCH}_3, R^4=\text{H}, R^5=\text{OH}$ |
| 29. 11-O-Acetylambellin | $R^1=\alpha\text{OCH}_3, R^2=\text{H}, R^3=\text{OCH}_3, R^4=\text{H}, R^5=\text{OCOCH}_3$ |
| 30. Brunsbellin | $R^1=\beta\text{OCH}_3, R^2=\text{H}, R^3=\text{OCH}_3, R^4=\text{OH}, R^5=\text{H}$ |
| 31. Buphanidrin | $R^1=\alpha\text{OCH}_3, R^2=\text{H}, R^3=\text{OCH}_3, R^4=R^5=\text{H}$ |
| 32. 6 α -Hydroxybuphanidrin | $R^1=\alpha\text{OCH}_3, R^2=\alpha\text{OH}, R^3=\text{OCH}_3, R^4=R^5=\text{H}$ |
| 33. 6 α -Methoxybuphanidrin | $R^1=\alpha\text{OCH}_3, R^2=\alpha\text{OCH}_3, R^3=\text{OCH}_3, R^4=R^5=\text{H}$ |
| 34. Buphanisin | $R^1=\alpha\text{OCH}_3, R^2=R^3=R^4=R^5=\text{H}$ |
| 35. <i>epi</i> -Buphanisin | $R^1=\beta\text{OCH}_3, R^2=R^3=R^4=R^5=\text{H}$ |
| 36. Charisin | $R^1=\beta\text{OCH}_3, R^2=\alpha\text{OCH}_3, R^3=\text{OCH}_3, R^4=\text{OCH}_3, R^5=\text{H}$ |
| 37. Krinin/Krinidin | $R^1=\alpha\text{OH}, R^2=R^3=R^4=R^5=\text{H}$ |
| 38. <i>epi</i> -Krinin | $R^1=\beta\text{OH}, R^2=R^3=R^4=R^5=\text{H}$ |
| 39. Powellin | $R^1=\alpha\text{OH}, R^2=\text{H}, R^3=\text{OCH}_3, R^4=R^5=\text{H}$ |
| 40. 6 α -Hydroxypowellin | $R^1=R^2=\alpha\text{OH}, R^3=\text{OCH}_3, R^4=R^5=\text{H}$ |
| 41. 3-O-Acetylpowellin | $R^1=\alpha\text{OCOCH}_3, R^2=\text{H}, R^3=\text{OCH}_3, R^4=R^5=\text{H}$ |



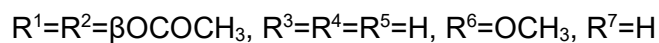
42. **Amabilin**



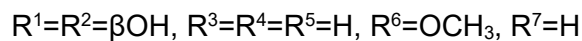
43. **Bowdensin**



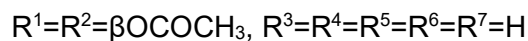
44. **1-*epi*-Bowdensin**



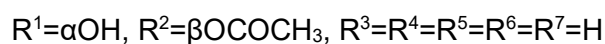
45. **1-*epi*-Deacetylbowdensin**



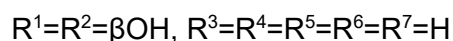
46. **1-*epi*-Demethoxybowdensin**



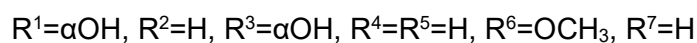
47. **Josephinin**



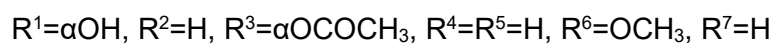
48. **4a-Dehydroxykrinamabin**



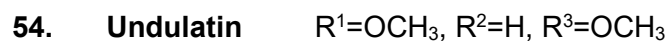
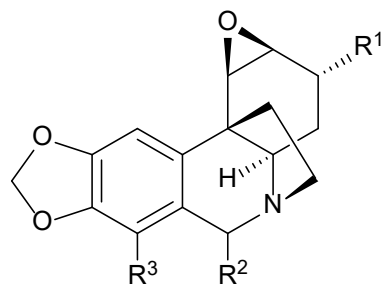
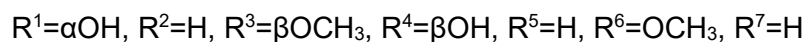
49. **Nerbowdin/Haemanthin**

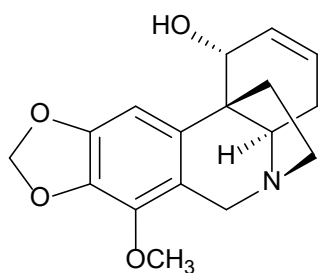


50. **3-*O*-Acetylnerbowdin**

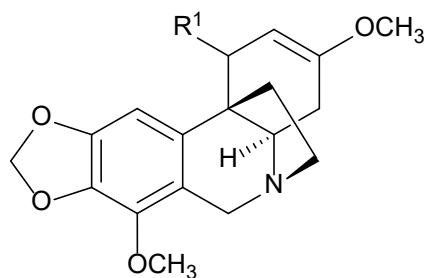


51. **1,4-Dihydroxy-3-methoxy-powellan**





55. **Buphanamin**

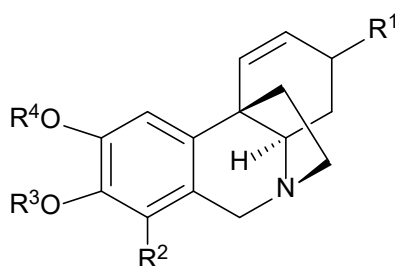


56. **Distichamin**

$R^1=O$

57. **Distichaminol**

$R^1=\beta OH$

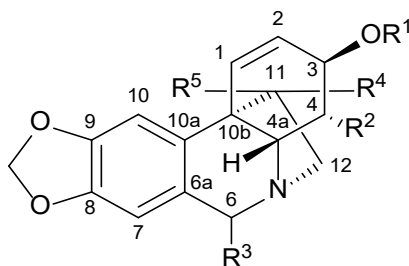


58. **Makowin**

$R^1=\alpha OH, R^2=R^3=H, R^4=CH_3$

Obr. 93: Strukturní vzorce alkaloidů krininového typu

5.6 Haemanthaminový typ



59. **Vittatin**

$R^1=R^2=R^3=R^4=R^5=H$

60. **11-Hydroxyvittatin**

$R^1=R^2=R^3=H, R^4=OH, R^5=H$

61. **3-O-Acetylvittatin**

$R^1=OCOCH_3, R^2=R^3=R^4=R^5=H$

62. **Haemanthamin**

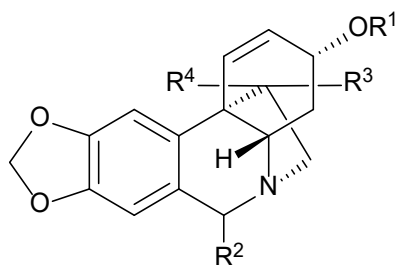
$R^1=CH_3, R^2=R^3=H, R^4=OH, R^5=H$

63. **Haemanthidin**

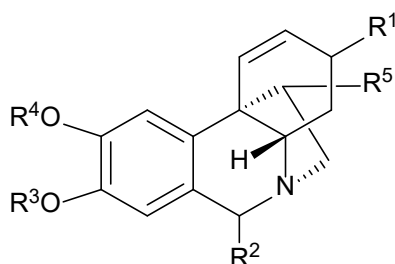
$R^1=CH_3, R^2=H, R^3=\alpha OCH_3, R^4=OH, R^5=H$

64. **epi-Haemanthidin**

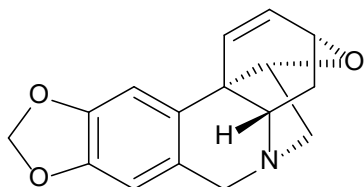
$R^1=CH_3, R^2=H, R^3=\beta OCH_3, R^4=OH, R^5=H$



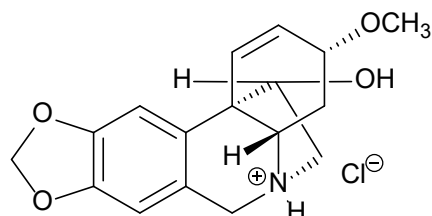
65. **Bulbispermin** $R^1=R^2=R^3=H, R^4=OH$
66. **3-[4'-(8'-Aminoethyl)phenoxy]bulbispermin** $R^1=C_6H_5C_2H_4NH_2, R^2=R^3=H, R^4=OH$
67. **3-O-Acetylhamayn** $R^1=OCOCH_3, R^2=H, R^3=OH, R^4=H$
68. **Hamayn** $R^1=R^2=H, R^3=OH, R^4=H$
69. **6 α -Hydroxykrinamin** $R^1=CH_3, R^2=\alpha OH, R^3=OH, R^4=H$
70. **6 β -Hydroxykrinamin** $R^1=CH_3, R^2=\beta OH, R^3=OH, R^4=H$
71. **Krinamin** $R^1=CH_3, R^2=H, R^3=OH, R^4=H$



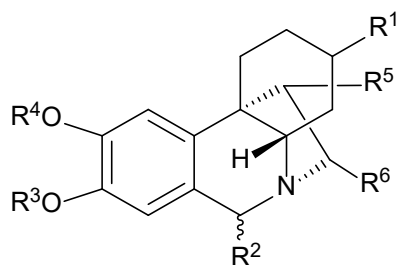
72. **8-O-Demethylmaritidin** $R^1=\beta OH, R^2=R^3=H, R^4=CH_3, R^5=H$
73. **Maritidin** $R^1=\beta OH, R^2=H, R^3=R^4=CH_3, R^5=H$
74. **O-Methylmaritidin** $R^1=\beta OCH_3, R^2=H, R^3=R^4=CH_3, R^5=H$
75. **Papyramin** $R^1=\beta OCH_3, R^2=\alpha OH, R^3=R^4=CH_3, R^5=H$
76. **6-epi-Papyramin** $R^1=\beta OCH_3, R^2=\beta OH, R^3=R^4=CH_3, R^5=H$



77. **Apohaemanthamin (*)**



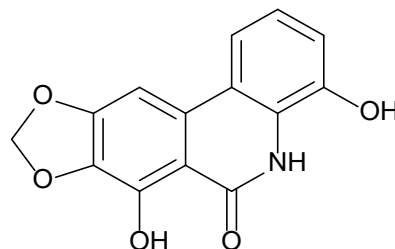
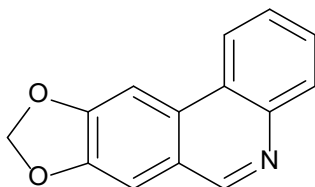
78. **Krinamin hydrochlorid**



79. **Delagoenin** $R^1=\alpha\text{OCOCH}_3, R^2=\text{H}, R^3=R^4=\text{CH}_3, R^5=\text{H}, R^6=\text{OH}$
 80. **Delagoensin** $R^1=\alpha\text{OCOCH}_3, R^2=\text{H}, R^3+R^4=\text{CH}_2, R^5=\text{H}, R^6=\text{OH}$

Obr. 94: Strukturní vzorce alkaloidů haemanthaminového typu

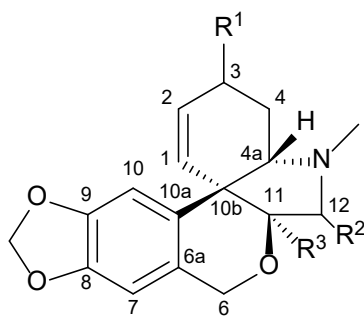
5.7 Narciklasinový typ



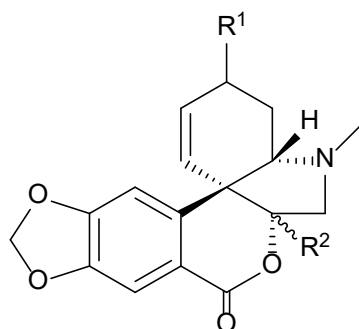
81. **Trisphaeridin** 82. **Narciprimin**

Obr. 95: Strukturní vzorce alkaloidů narciklasinového typu

5.8 Pretazettinový typ



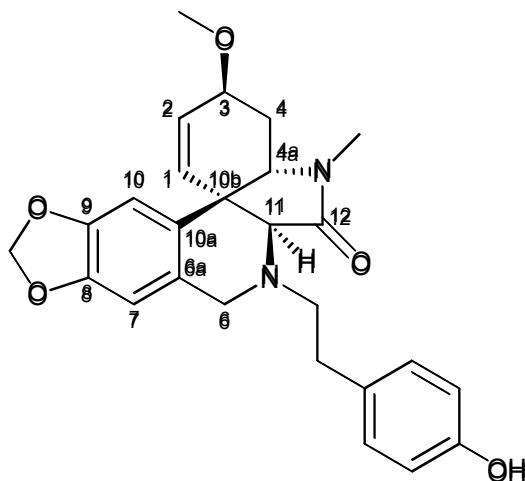
83. **Kriwellin** $R^1=\alpha\text{OCH}_3, R^2=\text{H}, R^3=\text{OH}$
 84. **Tazettin (*)** $R^1=\beta\text{OCH}_3, R^2=\text{H}, R^3=\text{OH}$



85. **3-epi-Makronin** $R^1 = \beta\text{OCH}_3$, $R^2 = \text{H}$

Obr. 96: Strukturní vzorce alkaloidů pretazettinového typu

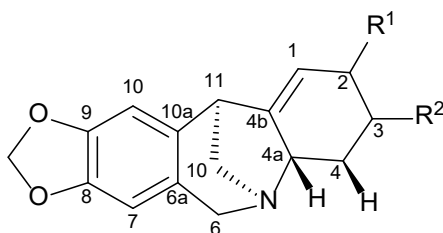
5.9 Plikaminový typ



86. **Obliquin**

Obr. 97: Strukturní vzorce alkaloidů plikaminového typu

5.10 Montaninový typ

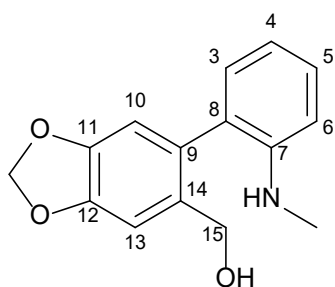


87. **Brunsvigin** $R^1 = R^2 = \alpha\text{OH}$

88. **Pankracin** $R^1 = \alpha\text{OH}$, $R^2 = \beta\text{OH}$

Obr. 98: Strukturní vzorce alkaloidů montaninového typu

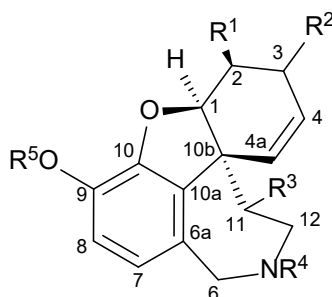
5.11 Isminový typ



89. Ismin

Obr. 99: Strukturální vzorce alkaloidů isminového typu

5.12 Galanthaminový typ

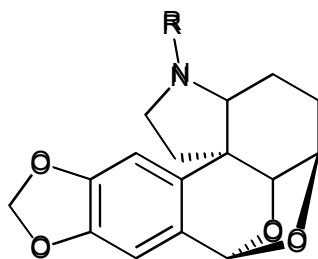


- | | | |
|-----|---------------------------------|--|
| 90. | 11 α -Hydroxygalanthamin | $R^1=H, R^2=\beta OH, R^3=\alpha OH, R^4=R^5=CH_3$ |
| 91. | Galanthamin | $R^1=H, R^2=\beta OH, R^3=H, R^4=R^5=CH_3$ |
| 92. | 3-O-Acetylsanguinin | $R^1=H, R^2=\beta OCOCH_3, R^3=H, R^4=CH_3, R^5=H$ |
| 93. | Sanguinin | $R^1=H, R^2=\beta OH, R^3=H, R^4=CH_3, R^5=H$ |

Obr. 100: Strukturální vzorce alkaloidů galanthaminového typu

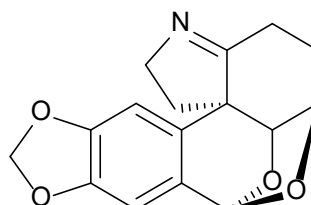
5.13 Ostatní typy

5.13.1 Augustaminový typ



94. Augustamin $R=H$

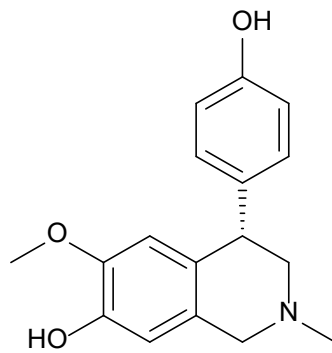
96. Noraugustamin $R=CH_3$



95. 4a,N-Didehydronoraugustamin

Obr. 101: Strukturální vzorce alkaloidů augustaminového typu

5.13.2 Cheryllinový typ



97. Cheryllin

Obr. 102: Strukturní vzorce alkaloidů cheryllinového typu

Tab. 2: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky – rody *Amaryllis* L., *Amocharis* Herb., *Boophone* Herb. [19, 91-103]

	<i>A. belladonna</i> L.	<i>A. coranica</i> Herb.	<i>B. disticha</i> Herb.	<i>B. haemanthoides</i> F.M.Leight.
Norbelladinový typ				
2. 4'-O-Methylnorbelladin	♦			
1. Belladin	♦			
Lykorinový typ				
9. Amarbellisin	♦			
6. 1-O-Acetyllykorin	♦	♦		
19. 1-O-Acetyl-9-O-demethylpluviin		♦		
14. Anhydrolykorin	♦			
16. 11,12-Didehydroanhydrolykorin	♦			
18. Golceptin		♦		
3. Karanin	♦	♦		
4. 1-O-Acetylkaranin	♦	♦	♦	
5. Lykorin	♦	♦		♦
17. Pratorin/Hippadin	♦	♦		
Homolykorinový typ				
26. Hippeastrin	♦			
Krininový typ				
28. Ambellin	♦	♦		♦
29. 11-O-Acetylambellin	♦			
55. Buphanamin	♦		♦	
31. Buphanidrin	♦	♦	♦	♦
32. 6 α -Hydroxybuphanidrin	♦	♦		
33. 6 α -Methoxybuphanidrin	♦			
34. Buphanisin	♦	♦	♦	♦
35. <i>epi</i> -Buphanisin		♦		
36. Charisin		♦		
56. Distichamin	♦		♦	♦
57. Distichaminol				♦
37. Krinin/Krinidin	♦		♦	♦
38. <i>epi</i> -Krinin		♦		

Tab. 2: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky – rody *Amaryllis* L., *Amocharis* Herb., *Boophone* Herb. [19, 91-103]

	<i>A. belladonna</i> L.	<i>A. coranica</i> Herb.	<i>B. disticha</i> Herb.	<i>B. haemanthoides</i> F.M.Leight.
53. Krinamidin	♦		♦	
48. 4a-Dehydroxykrinamabin			♦	
50. 3-O-Acetylnerbowdin			♦	
49. Nerbowdin/Haemanthin			♦	
51. 1,4-Dihydroxy-3-met-hoxy-powellan	♦			
39. Powellin	♦			
41. 3-O-Acetylpowellin	♦			
40. 6α-Hydroxypowellin		♦		
54. Undulatin	♦		♦	♦
Haemanthaminový typ				
67. 3-O-Acetylhamayn	♦			
61. 3-O-Acetylvittatin	♦			
72. 8-O-Demethylmaritidin	♦			
68. Hamayn		♦		
69. 6α-Hydroxykrinamin		♦	♦	
70. 6β-Hydroxykrinamin		♦	♦	
71. Krinamin	♦	♦		
60. 11-Hydroxyvittatin	♦			
59. Vittatin	♦			
Narciklasinový typ				
81. Trisphaeridin	♦			
Montaninový typ				
88. Pankracin	♦			
Isminový typ				
89. Ismin	♦			

Tab. 3: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. – rod *Brunsvingia* Heist. [8, 104-110]

	<i>B. grandiflora</i> Lindl.	<i>B. josephinae</i> [Ker-Gawl.]	<i>B. litoralis</i> R.A.Dyer	<i>B. orientalis</i> Ait. ex Eckl.	<i>B. radulosa</i> W.T.Aiton
Lykorinový typ					
5. Lykorin	♦		♦	♦	♦
6. 1-O-Acetylykorin					♦
7. 1,2-O-Diacetylykorin			♦		
15. 6-Oxoanhydrolykorin					♦
10. Anhydrolykorinium chlorid					♦
20. 1-O-Acetylnorpluviin					♦
17. Pratorin/Hippadin		♦			
21. Sternbergin		♦			♦
Krininový typ					
29. 11-O-Acetylbambellin		♦			
28. Ambellin		♦	♦		
30. Brunsbellin		♦			
44. 1- <i>epi</i> -Bowdensin				♦	
45. 1- <i>epi</i> -Deacetylbowdensin				♦	♦
46. 1- <i>epi</i> -Demethoxybowdensin				♦	
31. Buphanidrin		♦		♦	
35. <i>epi</i> -Buphanisin				♦	
34. Buphanisin		♦		♦	
47. Josephinin		♦			
37. Krinin/Krinidin		♦	♦	♦	♦
53. Krinamidin				♦	
Haemanthaminový typ					
77. Apohaemanthamin (*)					♦
67. 3-O-Acetylhamayn		♦			
68. Hamayn		♦			♦
69. 6 α -Hydroxykrinamin				♦	
70. 6 β -Hydroxykrinamin				♦	
71. Krinamin	♦	♦		♦	♦

Tab. 3: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. – rod <i>Brunsvingia</i> Heist. [8, 104-110]					
	<i>B. grandiflora</i> Lindl.	<i>B. josephinae</i> [Ker-Gawl.]	<i>B. litoralis</i> R.A.Dyer	<i>B. orientalis</i> Ait. ex Eckl.	<i>B. radulosa</i> W.T.Aiton
60. 11-Hydroxyvittatin	♦				
54. Undulatin		♦		♦	
Montaninový typ					
87. Brunsvigin					♦
Galanthaminový typ					
91. Galanthamin					♦

Tab. 4: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky – rod *Crinum* L. [8, 91, 110-117]

	<i>C. bulbispermum</i> (Burm.f.) Milne-Redh. & Schweick.	<i>C. buphanoides</i> Welw. ex Baker	<i>C. stuhlmannii</i> subsp. <i>delagoense</i> (I.Verd.) Kwembeya & Nordal	<i>C. graminicola</i> I.Verd.	<i>C. kirkii</i> Baker	<i>C. moorei</i> Hook.f.	<i>C. variabile</i> (Jacq.) Herb
Norbelladinový typ							
2. 4'-O-Methylnorbelladin					♦		
Lykorinový typ							
11. Kirkin					♦	♦	
6. 1-O-Acetyllykorin		♦			♦	♦	♦
7. 1,2-O-Diacetyllykorin					♦		♦
8. 2-O-Acetyllykorin		♦			♦		♦
16. 11,12-Didehydroanhydrolykorin						♦	
5. Lykorin	♦	♦	♦	♦	♦	♦	♦
13. Moorein						♦	
17. Pratorin/Hippadin		♦			♦		
22. Pratorimin		♦					
12. 8-O-Demethylvaskonin					♦		
25. 1,2-O-Diacetylzephyranthin					♦		
24. Zephyranthin					♦		
Galantindolový typ							
27. Galantindol						♦	
Krininový typ							
42. Amabilin					♦		
43. Bowdensin						♦	
31. Buphanidrin						♦	
35. <i>epi</i> -Buphanisin						♦	
45. 1- <i>epi</i> -Deacetylbowdensin						♦	
79. Delagoenin			♦				
80. Delagoensin			♦				

Tab. 4: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky – rod *Crinum* L. [8, 91, 110-117]

	<i>C. bulbispermum</i> (Burm.f.) Milne-Redh. & Schweick.	<i>C. buphanoides</i> Welw. ex Baker	<i>C. stuhlmannii</i> subsp. <i>delagoense</i> (l.Verd.) Kwembeya & Nordal	<i>C. graminicola</i> l.Verd.	<i>C. kirkii</i> Baker	<i>C. moorei</i> Hook.f.	<i>C. variabile</i> (Jacq.) Herb
52. Flexinin					♦		
37. Krinin/Krinidin	♦				♦	♦	
53. Krinamidin						♦	
58. Makowin					♦		
39. Powellin						♦	
54. Undulatin						♦	
Haemanthaminový typ							
67. 3-O-Acetylhamayn					♦	♦	
66. 3-[4'-(8'-Aminoethyl)phenoxy]bulbispermin						♦	
65. Bulbispermin							♦
62. Haemanthamin				♦			
64. <i>epi</i> -Haemanthidin							♦
63. Haemanthidin				♦			♦
68. Hamayn			♦		♦		♦
69. 6 α -Hydroxykrinamin	♦		♦				
70. 6 β -Hydroxykrinamin	♦		♦				
71. Krinamin	♦					♦	
60. 11-Hydroxyvittatin							♦
59. Vittatin						♦	
Pretazettinový typ							
83. Kriwellin			♦	♦			♦
84. Tazettin (*)		♦					♦
Isminový typ							
89. Ismin						♦	
Galanthaminový typ							
92. 3-O-Acetylsanguinin					♦		

Tab. 4: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky – rod *Crinum* L. [8, 91, 110-117]

	<i>C. bulbispermum</i> (Burm.f.) Milne-Redh. & Schweick.	<i>C. buphanoides</i> Welw. ex Baker	<i>C. stuhlmanii</i> subsp. <i>delagoense</i> (I.Verd.) Kwembeya & Nordal	<i>C. graminicola</i> I.Verd.	<i>C. kirkii</i> Baker	<i>C. moorei</i> Hook.f.	<i>C. variabile</i> (Jacq.) Herb
93. Sanguinin					♦		
Ostatní typy							
94. Augustamin					♦		
95. 4a, <i>N</i> -Didehydronoraugustamin					♦		
96. Noraugustamin					♦		
97. Cheryllin	♦					♦	

Tab. 5: Souhrn alkaloidů izolovaných z vybraných endemických rodů Jižní Afriky čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. – rod <i>Cyrtanthus</i> Aiton [84, 110, 118-122]						
	<i>C. breviflorus</i> Harv.	<i>C. contractus</i> N.E.Br.	<i>C. elatus</i> (Jacq.) Traub	<i>C. falcatus</i> R.A.Dyer	<i>C. mackenii</i> Hook.f.	<i>C. obliquus</i> (L.f.) L.f.
Lykorinový typ						
5. Lykorin	♦				♦	
23. Narcissidin						♦
25. 1,2-O-Diacetylzephyranthin			♦			
24. Zephyranthin			♦			
Haemanthaminový typ						
62. Haemanthamin	♦		♦			
63. Haemanthidin			♦			
71. Krinamin	♦					
78. Krinamin hydrochlorid	♦					
73. Maritidin				♦		
74. O-Methylmaritidin				♦		
75. Papyramin				♦		
76. 6- <i>epi</i> -Papyramin				♦		
60. 11-Hydroxyvittatin					♦	
Narciklasinový typ						
82. Narciprimin		♦				
81. Trisphaeridin						♦
Pretazetinový typ						
85. 3- <i>epi</i> -makronin						♦
84. Tazettin (*)	♦			♦	♦	♦
Plikaminový typ						
86. Obliquin						♦
Galanthaminový typ						
91. Galanthamin			♦			
90. 11 α -Hydroxygalanthamin						♦

6 BIOLOGICKÁ AKTIVITA

U některých ze zkoumaných alkaloidů byla ve studiích prokázána antiproliferativní, anti-protozoální, antibakteriální, antifungální, anxiolytická a antidepresivní aktivita či inhibiční aktivita vůči AChE a butyrylcholinesterase (BuChE).

6.1 Antiproliferativní aktivita

6.1.1 Nádorová onemocnění

Rakovinou se označují onemocnění, při kterých dochází k nekontrolovanému dělení abnormálních buněk. Tyto buňky mohou být schopné se šířit do jiných částí těla prostřednictvím krevního a lymfatického systému a napadat a ničit okolní tkáň. Tento proces dalšího šíření nádorových buněk je označován jako tvorba metastáz, které bývají hlavní příčinou úmrtí na rakovinu [123]. Celosvětově jsou nádorová onemocnění druhou nejčastější příčinou smrti, ihned po onemocněních kardiovaskulárního systému [124]. Dle nejnovějších dat Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC) bylo v roce 2022 odhaleno okolo 20 milionů nových případů rakoviny a zaznamenáno přibližně 9,7 milionů úmrtí v důsledku nádorových onemocnění. Dle odhadů IARC během svého života rakovinou onemocní přibližně 1 z 5 lidí, z nichž cca 1 z 9 mužů a 1 z 12 žen tomuto onemocnění podlehnou. Dle dat z roku 2022 přežilo do 5 let po diagnóze rakoviny okolo 53,5 milionů lidí. Ten samý rok prováděla Světová zdravotnická organizace (WHO) globální průzkum o rakovině a univerzálním zdravotním pokrytí (UHC). Ukázalo se, že pouze 39 % ze 115 zúčastněných zemí financuje základní zdravotní služby spojené s léčbou rakoviny pro všechny občany, a pouze 28 % ze zúčastněných zemí hraří potřebným pacientům i paliativní péči, včetně léčby bolesti. Vzhledem ke stálému nárůstu a stárnutí populace se očekává i nárůst incidence nádorových onemocnění na více než 35 milionů nových případů v roce 2050, což je o 77 % více než počet případů v roce 2022. Předpokládá se také, že incidence i úmrtnost na nádorová onemocnění bude nejvyšší v zemích s nízkými a středními příjmy. [125].

Dle dalších získaných dat IARC ze 185 zúčastněných zemí bylo zjištěno, že k roku 2022 tvořilo 2/3 všech nových případů a úmrtí na nádorové onemocnění pouze deset typů rakoviny (ze sledovaných 36). Nejčastěji se vyskytujícím nádorovým onemocněním na světě byla rakovina plic (12,4 % všech nových případů), dále na druhé příčce rakovina prsu (11,6 %) a na třetí příčce rakovina tlustého střeva (9,6 %). První nejčastější příčinou smrti na nádorové onemocnění byla rovněž rakovina plic (18,7 % všech úmrtí na rakovinu), dále rakovina tlustého střeva (9,3 %) a na třetím místě rakovina jater (7,8 %). Data incidence a mortality na nádorová onemocnění je ovšem vhodné porovnávat i z hlediska pohlaví. Ženy nejčastěji trpí a umírají na rakovinu prsu a až na druhé a třetí příčce na rakovinu plic a tlustého

střeva. Muži nejčastěji trpí a umírají na rakovinu plic, dále je však v pořadí nejvyšší incidence rakoviny prostaty a tlustého střeva a nejvyšší úmrtnost na rakovinu jater a tlustého střeva [125].

6.1.1.1 Etiologie

Odhaduje se, že na vzniku 80-90 % všech nádorů se podílejí zejména zevní rizikové faktory, z nichž je valná většina tvořena ovlivnitelnými rizikovými faktory [124]. Jedná se zejména o kouření a nedostatečně pestrou či jinak nevhodnou výživou, s níž souvisí i riziko obezity, nadměrné konzumace alkoholu a nízké fyzické aktivity. K dalším ovlivnitelným rizikovým faktorům lze zařadit pracovní riziko expozice karcinogenům (práce s chemikáliemi či v prašném prostředí, nadměrné vystavování se slunečnímu, UV nebo ionizujícímu záření), znečištění životního prostředí a v neposlední řadě i duševní nerovnováha a psychický stres. Jistý vliv na rozvoj nádorového onemocnění mají i některá infekční agens [124, 126]. Lidský papilomavirus (HPV) se kupříkladu podílí na rozvoji karcinomu děložního čípku, lidský virus imunitní nedostatečnosti (HIV-1) a lidský herpesvirus-8 (HHV-8) souvisí s rizikem rozvoje lymfomů a Kaposiho sarkomu, virus Epstein a Barrové s nazofaryngeálními karcinomy, viry hepatitidy B a C zvyšují riziko vzniku hepatocelulárního karcinomu i dlouhou dobu po infekci, anebo např. bakterie *Helicobacter pylori* má významnou souvislost s rizikem vzniku karcinomu žaludku [124]. Neovlivnitelné rizikové faktory zahrnují zejména věk, rodinnou dispozici (genetické faktory) a imunodeficienci [124, 126].

6.1.1.2 Klinický obraz

Nádorová onemocnění se obvykle projevují zejména nespecifickými příznaky. Zpozornit je tedy třeba, objevuje-li se v anamnéze pacienta např. zvýšená únavnost a nízká pracovní výkonnost, nechutenství, polykací obtíže, nevysvětlitelné hubnutí, dlouhodobé horečky doprovázené silným pocením, neuropatie, chronický dráždivý kašel či chrapot (zvláště u silných kuřáků), pruritus kůže, krvácení (přítomnost krve ve slinách, zvracích, moči, stolici) a specificky u žen také neobvyklý výtok z rodidel či prsních bradavek [126].

6.1.1.3 Terapie

V současné době existuje hned několik různých léčebných metod. Mezi dnes nejspolehlivější metody patří zejména ty založené na inhibici buněčné proliferace a indukci apoptózy. Chemoterapie při systémovém podání neselektivně ovlivňuje všechny proliferující buňky, zatímco radioterapie účinkuje pouze lokálně v ozařované oblasti. Využitím cílené protinádorové léčby lze poměrně specificky blokovat konkrétní signální dráhy, a to buď neutralizací ligandu, anebo inhibicí extracelulární či intracelulární domény receptoru. Tímto způsobem lze kromě inhibice buněčné proliferace a indukce apoptózy také potlačovat novotvorbu cév a invazivitu a/nebo metastázování nádorů. Další používané metody zahrnují chirurgické odstranění dostupného nádoru, imunoterapii, biomodulační léčbu či léčbu hormonální (u hormonálně

podmíněných nádorových onemocnění) [127]. Protinádorová léčba by měla být ideálně co nejméně toxická vůči zdravým tkáním, a naopak optimálně účinná v eliminaci nádoru a v zajištění dlouhodobé kompletní remise. Účinek, ale i toxicitu jednotlivých protinádorových léčiv lze vystupňovat jejich vzájemnou kombinací. Kombinační léčbou je ovšem také možné do určité míry předcházet vzniku sekundární rezistence (účinnost používaného léčiva se v průběhu terapie snižuje v důsledku snižování citlivosti nádorových buněk, např. působením P-glykoproteinu) [128]. V současnosti se další výzkum soustřeďuje zejména na hledání nových biomarkerů, díky nimž by se dala spolehlivě určit prognóza a nejlépe vyhovující způsob léčby pro konkrétního pacienta, a na možné využití genové terapie k úpravě genetického defektu nádorových buněk (vnesejí nové genetické informace do genomu postižených buněk pomocí virového vektoru) [127, 128].

6.1.2 Charakteristika nádorových buněk a nádorového bujení

Nádorová onemocnění jsou vždy způsobena genetickým poškozením primárně jedné somatické buňky organismu v důsledku kumulace celé řady mutačních změn [124, 129]. Maligní transformace může být iniciována jednak mutací protoonkogenů zodpovědných za kódování proteinů pozitivně regulujících buněčný cyklus a buněčné dělení, jednak mutací supresorových genů kódujících bílkoviny negativně regulující buněčný cyklus a buněčnou proliferaci, dále mutací genů reparačních drah odpovědných za produkci proteinů účastnících se mechanismů reparace mutací poškozené DNA, anebo mutací genů signálních drah, jejichž genové produkty řídí procesy proliferace a diferenciací buněk v rámci buněčné komunikace [124, 129, 130]. Takto geneticky poškozená buňka a posléze i její klon získává schopnost nekontrolovatelného buněčného dělení a schopnost unikání před obrannými mechanismy organismu, kterými jsou: imunologické procesy vedoucí k identifikaci a odstranění nádorových buněk, procesy oprav změn způsobených mutací v DNA, procesy vyvolané působením vnějších antiproliferativních signálů produkovaných sousedními zdravými buňkami a proces programované buněčné smrti (apoptózy) uplatňujícím se při nevratném poškození buňky [124]. K charakteristickým znakům nádorových buněk, kromě těch již zmíněných, přináležejí také nestabilita genomu, výrazná angiogeneze (novotvorba cév), invazivita a metastazování, a deregulace energetického metabolismu (tzv. Warburgův efekt, který nádorovým buňkám umožňuje vypořádat se se zvýšenými metabolickými nároky souvisejícími s rychlou proliferací, a to funkčním narušením Krebsova cyklu – aerobní glykolýzou) [124, 129]. Některé malignity mohou být také vyvolány v důsledku chronického zánětu [124].

6.1.2.1 Buněčný cyklus a apoptóza

Jak bylo zmíněno výše, pro správný vývoj a činnost celého organismu je nezbytná funkční regulace všech kontrolních pochodů a mechanismů v buňkách, aby se předešlo porušení rovnováhy novotvorby buněk v buněčném cyklu a zániku poškozených a nepotřebných

buněk apoptózou [129, 130]. Buněčným cyklem se označuje sled všech buněčných procesů probíhajících mezi dvěma buněčnými děleními [130]. Buněčný cyklus se dělí do několika fází (G1, S, G2 a M), jehož zahájení fází G1 (růstem buňky) je však závislé na dostatku živin a na příjmu a zpracování signálů z vnějšího prostředí buňky, které pozitivně stimulují buněčné dělení (tzv. růstové faktory), jinak buňka setrvává v klidové fázi G0 postavené mimo samotný buněčný cyklus [129, 130]. Buňky též zůstávají ve fázi G0, pokud jsou vystaveny působení inhibičních faktorů buněčného dělení, např. transformujícímu růstovému faktoru β (TGF- β) [130]. Po fázi G1 následuje fáze S, kde dochází k replikaci genomové DNA, fáze G2, v níž probíhají přípravy na samotné dělení, a nakonec podstatou poslední fáze M je rovnoměrné rozdělení genetického materiálu a buněčného obsahu z jedné mateřské buňky do dvou nových buněk dceřiných [129, 130]. Průměrná doba trvání jednoho buněčného cyklu činí cca 24 h, z čehož nejdelší časový úsek buňky tráví ve fázích G1, S a G2 (tzv. interfázi). Pro postup z jedné fáze do druhé musí buňka překonat několik kontrolních bodů (bod v G1, S, G2 a M fázi). Pokud buňka v těchto kontrolních bodech nesplňuje potřebné požadavky, např. objeví-li se poškození genomu v S fázi, není dokončena replikace DNA v G2 fázi či nejsou-li sesterské chromatidy správně navázány na dělicí vřeténko v M fázi, dojde k zastavení buněčného cyklu [130].

Průchod jednotlivými fázemi a přechod z jedné fáze do té následující je na molekulární úrovni umožněn komplexy skládajícími se ze dvou proteinů: cyklin-dependentních kináz (CDK) a jejich aktivačních podjednotek cyklinů (samotné CDK bez navázaných cyklinů nejsou aktivní). Komplexy cyklin-CDK však nabývají plné kinázové aktivity až po aktivační fosforylaci cyklin aktivačními kinázami (CAK). Aktivované cyklin-CDK komplexy jsou zodpovědné za fosforylaci (a tím aktivaci či deaktivaci) cílových proteinů, které se podílejí na řízení procesů buněčného cyklu [129, 130]. Existuje ovšem i kináza WEE1, která je nejvíce aktivní ve fázi G2 a která inhibiční fosforylací specificky zamezuje aktivaci CDK1 ve fázi M. Aby mohla buňka po inhibici CDK1 vstoupit do M-fáze musí být z CDK1 nejprve odstraněny inhibiční fosfátové zbytky pomocí aktivační fosfatázy CD25 [130]. Neporušená jednosměrná návaznost jednotlivých fází buněčného cyklu je dána schopností cyklinů vytvářet komplexy pouze s konkrétními CDK, které jsou specificky enzymaticky aktivní pouze v dané fázi cyklu, a díky cílené rychlé degradaci konkrétního cyklinu na přechodu mezi danými fázemi proteolýzou zprostředkovanou ubikvitinizací a následnou degradací v proteasomech [129, 130].

Negativní regulace cyklin-CDK komplexů je zprostředkována pomocí inhibitorů CDK, jež lze rozdělit do dvou proteinových rodin na základě rozdílné specifity pro jednotlivé cyklin-CDK komplexy. Do první rodiny označované jako INK4 (Inhibitory CDK4) nebo též p16 patří inhibitory p16^{INK4A}, p15^{INK4B}, p18^{INK4C} a p19^{INK4D}, které inhibují aktivitu komplexů cyklin D-CDK4 a cyklin D-CDK6 ovlivňujících průchod fází G1 před dosažením kontrolního bodu

(tedy v době, kdy je ještě buňka citlivá na extracelulární podněty) [129, 130]. Vyšší exprese inhibitoru CDK p16^{INK4A} umožní buňce zahájit proces tzv. replikativní senescence neboli trvalého opuštění buněčného cyklu. Specifická vazba TGF- β na receptor v cytoplazmatické membráně aktivuje signální dráhu vedoucí ke zvýšení exprese inhibitoru CDK p15^{INK4B}, což následně vede ke vstupu buňky do fáze G0 kvůli naprostému zablokování přestupu přes kontrolní bod ve fázi G1 [130]. Druhá rodina značená jako KIP/CIP či p21 se skládá z inhibitorů p21^{Cip1}, p27^{Kip1} a p57^{Kip2}, které jsou schopny inhibovat komplexy cyklin E-CDK2 (řídí přechod z fáze G1 do S), cyklin A-CDK2 (řídí průchod fází S), cyklin A-CDK1 (dokončení S fáze a vstup do G2 fáze) a cyklin B-CDK1 (vstup do M fáze) po průchodu kontrolním bodem [129, 130]. Pro správný růst a vývoj organismu je důležitá regulace počtu dělení buněk v různorodých tkáních expresí inhibitorů CDK p27^{Kip1} a p57^{Kip2} [130]. Exprese inhibitoru CDK p21^{Cip1}, jehož cílem je pozastavit buněčný cyklus k umožnění opravy poškozené DNA, je vyvolána zejména působením supresorového proteinu p53. Protein p53, nebo také transkripční faktor p53, je navázán ve formě tetrameru na specifických sekvencích DNA v promotorech cílových genů a regulací exprese těchto cílových genů reaguje na rozličné stresové impulzy jako je např. poškození DNA, aktivace onkogenů či nedostatečné množství kyslíku či živin v buňce [129, 130]. Za normálních podmínek je hladina i transkripční aktivita proteinu p53 ve zdravých buňkách velmi nízká. Protein p53 se může ovšem podílet i na spuštění apoptózy expresí proapoptických proteinů Bax či APAF1, anebo receptorů smrti jako je např. Fas (viz níže) [130].

Silným negativním regulátorem buněčného cyklu je také protein Rb (retinoblastomový protein), jenž vazbou transkripčních faktorů rodiny E2F v kontrolním bodě fáze G1 znemožňuje jejich aktivaci a řízení exprese genů zodpovědných za tvorbu produktů nezbytných pro přechod do fáze S. Aktivace transkripčních faktorů E2F je závislá na fosforylaci proteinu Rb zprostředkované příslušnými komplexy cyklin-CDK. Mírná fosforylace fyziologicky probíhá již během průchodu fází G1 pomocí komplexů cyklin D-CDK4 a cyklin D-CDK6 [129, 130]. Po překročení kontrolního bodu fáze G1 následuje silná fosforylace proteinu Rb činností komplexu cyklin E-CDK2, díky níž dochází k uvolnění transkripčních faktorů E2F z vazby na protein Rb [130]. Uvolněné transkripční faktory E2F však kromě genů potřebných k postupu do fáze S aktivují i expresi genu pro cyklin E, čímž pozitivní zpětnou vazbou dále navyšují četnost aktivních komplexů cyklin E-CDK2, a tím také míru fosforylace proteinu Rb [129, 130]. Sotva buňka přestoupí do fáze S, jsou nevyužité transkripční faktory E2F cíleně degradovány a hyperfosforylovaný protein Rb je během přestupu z fáze M do fáze G1 defosforylován fosfatázou PP1 [130].

Apoptóza představuje fyziologický děj potřebný k udržení tkáňové homeostázy a má klíčovou úlohu nejen v období embryogeneze (formování tkání, vývoj imunitní odpovědi a tolerance), ale i v postnatálním období (regulace populací imunokompetentních buněk,

odstraňování buněk nepotřebných či poškozených, např. napadených virem či nádorově transformovaných). Proces apoptózy může být zahájen buď extrinzickou (vnější) nebo intrinzickou (vnitřní) signální drahou. Extrinzická signální dráha je aktivována navázáním tzv. ligandů smrti exprimovaných na povrchu cytotoxických T-lymfocytů nebo NK-buněk na příslušné receptory smrti, které jsou exprimovány buňkami všech tkání (i buňkami imunitního systému) [129, 130]. Významná část ligandů smrti je součástí proteinové rodiny tumor nekrotizujících faktorů (TNF), k nimž přináležejí ligandy jako TNF α , TRAIL či FasL, známý též jako CD95L [130]. Každý konkrétní ligand smrti se váže na svůj specifický receptor smrti (např. TNF α na TNFR1, FasL/CD95L na Fas/CD95/APO-1 receptor atd.). Po této vazbě následuje asociace receptorů smrti v trimerní komplex, což vede ke změně jejich konformace a posléze k navázání adaptorových proteinů jako jsou FADD či TRAF-2 na jejich intracelulární doménu. Poté se následující vazbou prokaspasy 8 vytváří apoptický aktivační komplex DISC, který je schopný aktivovat iniciační kaspasy 8 a 10, jejichž funkcí po tvorbě dimerů je aktivace exekučních kaspas 3, 6 a 7. Od tohoto bodu jsou již další postupy extrinzické i intrinzické dráhy společné, až na štěpení chromozomální DNA (viz níže) [129, 130]. Kaspasy 3, 6 a 7 štěpí mnoho dalších prokaspas, čímž je aktivují, a ty posléze štěpí a aktivují další prokaspasy a spouští tak řetězovou reakci (tzv. kaspasovou kaskádu). Během kaspasové kaskády dochází ke štěpení mnoha klíčových bílkovin (strukturních proteinů – jaderných lamin, aktinu, tubulinu atd.; signálních a regulačních proteinů – proteinkinás, transkripčních faktorů, proteinů regulujících RNA a DNA atd.), čímž se spouští typické biochemické a morfologické procesy vedoucí k rozpadu buňky na malá apoptická tělíska obsahující zbytky organel [130]. Chromozomální DNA je ještě před rozpadem apoptické buňky fragmentována buď nukleasou CAD, jejíž aktivace je zprostředkována pomocí kaspasy 3, která štěpí vazbu mezi CAD a jejím inhibičním proteinem ICAD, anebo endonukleasou G, která se v rámci intrinzické dráhy translokuje do jádra po vyplavení z mitochondrií [129, 130]. Apoptická tělíska jsou nakonec pohlcena makrofágy či sousedními buňkami. [130]. Extrinzickou dráhou apoptózy dochází zejména k eliminaci buněk infikovaných virem nebo buněk nádorově transformovaných, zatímco intrinzická dráha se spouští u buněk nepotřebných či poškozených, přijetím signálů přicházejících z vnitra (hypoxie, kyslíkové radikály, poškození DNA, poruchy buněčného cyklu atd.). Intrinzická dráha je zahájena uvolněním cytochromu c a dalších apoptických faktorů z intermembránového prostoru mitochondrií. Cytochrom c se následně navazuje na protein APAF1, čímž jej aktivuje ke změně konformace, a tím následně k navázání prokaspasy 9. Touto vazbou vzniká apoptický aktivační komplex intrinzické dráhy zvaný apoptozom, který následně autokatalyticky aktivuje prokaspasu 9 za vzniku volné iniciační kaspasy 9, jejíž funkcí je spuštění kaspasové kaskády štěpením a aktivací exekučních kaspas 3, 6 a 7 [129, 130].

Proces apoptózy je regulován na různých úrovních několika proteiny. Zásadní vliv na uvolnění cytochromu c z mitochondrií mají proteiny rodiny Bcl-2, které lze rozdělit na proapoptické (Bak, Bax, ad.) lokalizované v neaktivní formě v cytosolu a antiapoptické membránové proteiny (Bcl-2, Bcl-X_L ad.). Proapoptické bílkoviny mění při stimulaci svou konformaci a translokují se do mitochondriální membrány, kterou po tvorbě dimerů proděraví, a tím umožňují průchod cytochromu c do cytosolu. Antiapoptické proteiny naopak stabilizují mitochondriální membránu antagonistickým působením na proapoptické proteiny (např. protein Bcl-2 zneumožňuje tvorbou komplexu s proteinem Bak nebo Bax jejich funkci permeabilizace mitochondriální membrány). Dále může být inhibována aktivace kaspasy 8 proteiny FLIPs, které kompetují s prokaspasou 8 o vazbu na DISC, a inhibice již aktivovaných kaspas je zprostředkována vazbou kaspas s proteiny IAP. Proteiny IAP však také mohou být inhibovány např. proteiny SMAC/DIABLO, které se vyplavují z mitochondrií po porušení jejich vnější membrány a tak se podílí na spuštění apoptózy [129, 130].

6.1.3 Studie zkoumající antiproliferativní aktivitu extraktů z více endemických rodů rostlin Jižní Afriky najednou

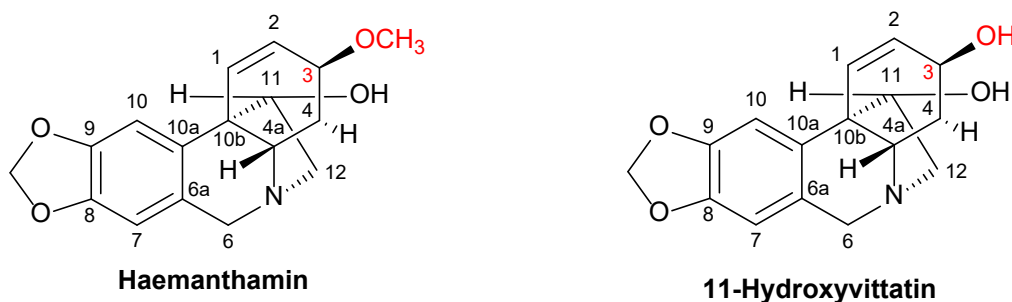
V roce 2021 byly zkoumány antiproliferativní účinky methanolových extraktů z čerstvého rostlinného materiálu 14 JA druhů včetně *A. belladonna* L., *A. longifolia* (L.) Herb, *B. bosmaniae* F.M.Leight, *B. disticha* Herb., *C. moorei* Hook.f., *C. variable* (Jacq.) Herb a *C. breviflorus* Harv. proti glioblastomovým buněčným liniím U251 a U87, a také proti neuroblastomové buněčné linii SH-SY5Y (Tab. 6). Po provedení MTT testu s doxorubicinem jako standardem byla u některých extraktů dokázána antiproliferativní aktivita ($IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$) u všech tří testovaných buněčných linií. Nejvýraznější inhibiční aktivita byla naměřena u methanolového extraktu *A. belladonna* L., který byl dokonce výrazně aktivnější ve všech třech testovaných parametrech než doxorubicin. Methanolový extrakt *C. breviflorus* Harv. byl v porovnání s doxorubicinem aktivnější vůči buněčné linii SH-SY5Y a u methanolového extraktu *C. variable* (Jacq.) Herb byla zjištěna výrazná inhibiční aktivita vůči buněčné linii U87. Methanolový extrakt *A. longifolia* (L.) Herb byl také výrazně aktivnější než doxorubicin vůči buněčné linii U87, a byl téměř stejně aktivní jako standard vůči buněčné linii SH-SY5Y. Methanolový extrakt *C. moorei* Hook.f. vykazoval slabší aktivitu oproti doxorubicinu u všech testovaných linií a extrakty *B. bosmaniae* F.M.Leight a *B. disticha* Herb neměly prakticky žádný účinek na životaschopnost buněk u všech testovaných buněčných linií ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$) [131].

Legenda k následujícím tabulkám: symbol st označuje standard.

Tab. 6: Souhrn naměřených hodnot IC ₅₀ (µg/ml) u vybraných testovaných endemických rostlin JA [131]			
	U251	U87	SH-SY5Y
<i>A. belladonna</i> L.	15,64	23,09	6,65
<i>A. longifolia</i> (L.) Herb	>100	32,01	26,73
<i>B. bosmaniae</i> F.M.Leight	>100	>100	>100
<i>B. disticha</i> Herb.	>100	>100	>100
<i>C. moorei</i> Hook.f.	90,51	82,39	>100
<i>C. variabile</i> (Jacq.) Herb	69,23	39,47	63,88
<i>C. breviflorus</i> Harv.	70,56	74,59	16,73
Doxorubicin st	42,18	74,21	24,10

6.1.4 Rod *Amaryllis* L.

Ve studii z roku 2009 byla hodnocena antiproliferativní aktivita vůči buněčným liniím HeLa a Vero a schopnost indukovat apoptózu v buňkách Jurkat u 29 AmA, včetně amarbellisinu, 11-hydroxyvittatinu, hippeastrinu a 8-demethylmaritidinu izolovaných z *A. belladonna* L. Ukázalo se, že amarbellisin měl výrazný antiproliferativní účinek vůči HeLa i Vero buňkám zvláště po navýšení koncentrace na 25 µM (% životaschopnosti buněk po 48 h bylo stanoveno pomocí MTT testu), avšak prakticky žádnou schopnost indukce apoptózy v buňkách Jurkat (% apoptických buněk po 24 h bylo stanoveno pomocí průtokové cytometrie). Podobně neuspokojivých výsledků u buněčné linie Jurkat (i při 25 µM koncentracích) dosáhly i ostatní tři zmiňované alkaloidy *A. belladonna* L. (Tab. 7). U těchto tří alkaloidů se však neprojevila ani významná antiproliferativní aktivita (životaschopnost buněk HeLa i Vero zůstala vysoká). Nejvyšší antiproliferační účinky vykazovaly zkoumané alkaloidy narciklasinového typu (př. narciklasin, narciklasin tetraacetát, Tab. 7). Bylo ovšem dokázáno, že přítomnost methoxy skupiny na C3 haemanthaminu je důležitou součástí jeho antineoplastického farmakoforu (demethylovaný přírodní protějšek haemanthaminu – 11-hydroxyvittatin, byl prohlášen za neaktivní; Obr. 103) [93].



Obr. 103: Odlišné strukturální znaky alkaloidů haemanthaminu a 11-hydroxyvittatinu v souvislosti s antiproliferativní aktivitou [93]

Tab. 7: Antiproliferativní aktivita vybraných alkaloidů [93]						
	% životaschopnosti buněk po 48 h				% apoptických buněk po 24 h	
	HeLa		Vero		Jurkat	
	5 μ M	25 μ M	5 μ M	25 μ M	1 μ M	25 μ M
Amarbellisin	51 \pm 3	23 \pm 2	44 \pm 3	28 \pm 1	4 \pm 3	4 \pm 1
11-Hydroxyvittatin	86 \pm 3	72 \pm 5	64 \pm 2	64 \pm 6	3 \pm 1	4 \pm 1
Haemanthamin	30 \pm 2	21 \pm 2	44 \pm 3	32 \pm 2	4 \pm 1	22 \pm 1
Hippeastrin	78 \pm 5	57 \pm 2	78 \pm 7	48 \pm 2	3 \pm 1	5 \pm 1
8-Demethylmaritidin	90 \pm 7	82 \pm 7	87 \pm 4	82 \pm 5	5 \pm 1	4 \pm 1
Narciklasin	10 \pm 1	6 \pm 1	10 \pm 2	6 \pm 1	60 \pm 1	76 \pm 1
Narciklasin tetraacetát	21 \pm 2	6 \pm 1	21 \pm 10	10 \pm 1	50 \pm 2	57 \pm 2

Další strukturální znaky AmA haemanthaminového typu ovlivňující míru antineoplastické aktivity byly zaznamenány ve studiích publikovaných v letech 2007 a 2009 [132, 133]. V první studii probíhal screening osmi AmA haemanthaminového a krininového typu (amabilinu, ambellinu, 1,2-epoxyambellinu, haemanthaminu, josephininu, krinaminu, krininu a 6 α -hydroxyundulatinu) na jejich schopnost selektivně vyvolat apoptózu v kancerogenních buňkách 5123tc, ale nikoli v normálních HEK-293t buňkách. Takové výhodné schopnosti se projevily zejména u haemanthaminu a krinaminu, které při testované koncentraci 25 μ M po 48 h indukovaly apoptózu v 85 až >90 % rakovinných buněk 5123tc (kondenzovaná jádra byla jasně zbarvená barvivem Hoechst). Dále byla pro oba tyto alkaloidy stanovena účinná dávka (koncentrace testované sloučeniny schopná indukovat apoptózu u 50 % buněk, ED₅₀) – pro haemanthamin ED₅₀ = 12,5 μ M a pro krinamin ED₅₀ = 15 μ M. V návaznosti na tyto výsledky byly jako farmakoforické prvky, které mají vliv na selektivní navození apoptózy alkaloidů haemanthaminového typu, určeny: α -5,10b-ethanový můstek a volná hydroxy-skupina na uhlíku C11. Zkoumané alkaloidy krininového typu s β -5,10b-ethanovým můstkem (amabilin, ambellin, 1,2-epoxyambellin, josephinin, krinin a 6 α -hydroxyundulatin) totiž vykazovaly pouze nízkou protinádorovou aktivitu. Podobně tomu bylo i u dvou derivátů krinaminu připravených acylací volného hydroxyly na uhlíku C11 acetanhydridem a 4-methoxybenzoylchloridem, jež oba zcela postrádaly apoptózu indukující účinky [132]. Ve druhé zmíněné studii byly navíc kromě haemanthaminu a krinaminu studovány dva další alkaloidy haemanthaminového typu (hamayn a vittatin) a další dva deriváty (dihydrohamayn a dihydrokrinamin) na schopnost indukovat apoptózu u buněčné linie Jurkat. Alkaloid vittatin při 10 μ M již po 18 h inkubaci vyvolal aktivaci kaspasy 3 a po 24 h při stejné koncentraci vykazoval srovnatelně významnou aktivitu s haemanthaminem

a krinaminem (jádra buněk Jurkat vystavených působení vittatinu byla kondenzovaná a jasně zbarvená barvivem Hoechst). Po 24 h působení vittatinu při 25 μM koncentraci došlo k apoptóze u cca 65 % buněk Jurkat, zatímco haemanthamin a krinamin za stejných podmínek indukovaly apoptózu u 85 až >90 % rakovinných buněk Jurkat. Díky těmto výsledkům a vzájemnému porovnání struktur zmíněných alkaloidů lze k dalším farmakoforickým prvkům zařadit i důležitost přítomnosti akceptoru vodíkových vazeb na uhlíkovém atomu C3 (např. methoxy-skupina u krinaminu či haemanthaminu nebo β -hydroxy-skupina u vittatinu). U hamaynu vedla přítomnost α -hydroxy-skupiny k mírnému snížení aktivity. Dále se předpokládá, že substituent na uhlíku C11 musí být malý (H nebo OH), aby stericky nebránil vazbě v jeho aktivním místě. Tato vazba se zřejmě neuskutečňuje pomocí vodíkových vazeb. Dále bylo zjištěno, že dvojná vazba mezi uhlíkovými atomy C1 a C2 není pro protinádorovou aktivitu nutným požadavkem, ale její přítomnost či nepřítomnost moduluje aktivitu derivátů. Hydrogenací této dvojně vazby u významně aktivního alkaloidu krinaminu s α -methoxy-skupinou došlo k výraznému snížení účinku, zatímco mírná aktivita hamaynu se převedením na dihydrohamayn zvýšila [133].

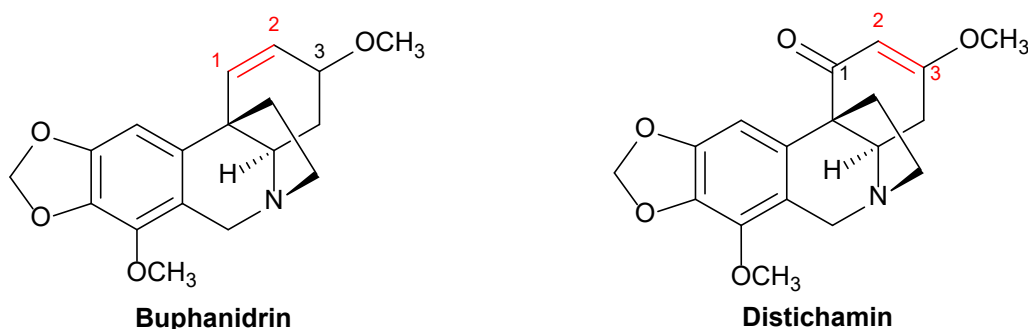
Ve studii z roku 2017 byla potvrzena protinádorová aktivita vůči buněčné linii L6 *in vitro* u surového methanolového extraktu *A. belladonna* L. i u tří alkaloidů izolovaných z tohoto extraktu: 1-O-acetylkaraninu, buphanaminu a 3-O-acetylhamaynu. Avšak v porovnání s naměřenými hodnotami zvoleného standardu (podofylotoxinu) byla naměřená antineoplastická aktivita všech vzorků nižší (Tab. 8) [19].

Tab. 8: Antineoplastická aktivita IC₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) surového methanolového extraktu a z něj izolovaných alkaloidů z <i>A. belladonna</i> [19]	
Surový methanolový extrakt	34,3
Buphanamin	>100
1-O-acetylkaranin	14,2
3-O-acetylhamayn	1,72
Podophylotoxin st	0,005

Dále byla o rok později testována antiproliferativní aktivita 1-O-acetylkaraninu, pratorinu (hippadinu), ambellinu, 11-O-acetylabellinu, distichaminu a 1,4-dihydroxy-3-methoxy-powellanu izolovaných z methanolového extraktu cibule *A. belladonna* L. vůči buněčné linii A2780. U pratorinu nebyla potvrzena žádná antiproliferativní aktivita. Nejvyšší dosažený, avšak přesto jen slabý inhibiční účinek byl u 1-O-acetylkaraninu ($\text{IC}_{50} = 56 \pm 1 \mu\text{M}$). Všechny ostatní látky pak vykazovaly pouze velmi slabou inhibiční aktivitu ($\text{IC}_{50} = >60 \mu\text{M}$) [94].

6.1.5 Rod *Boophone* Herb. a *Cyrтанthus* Aiton.

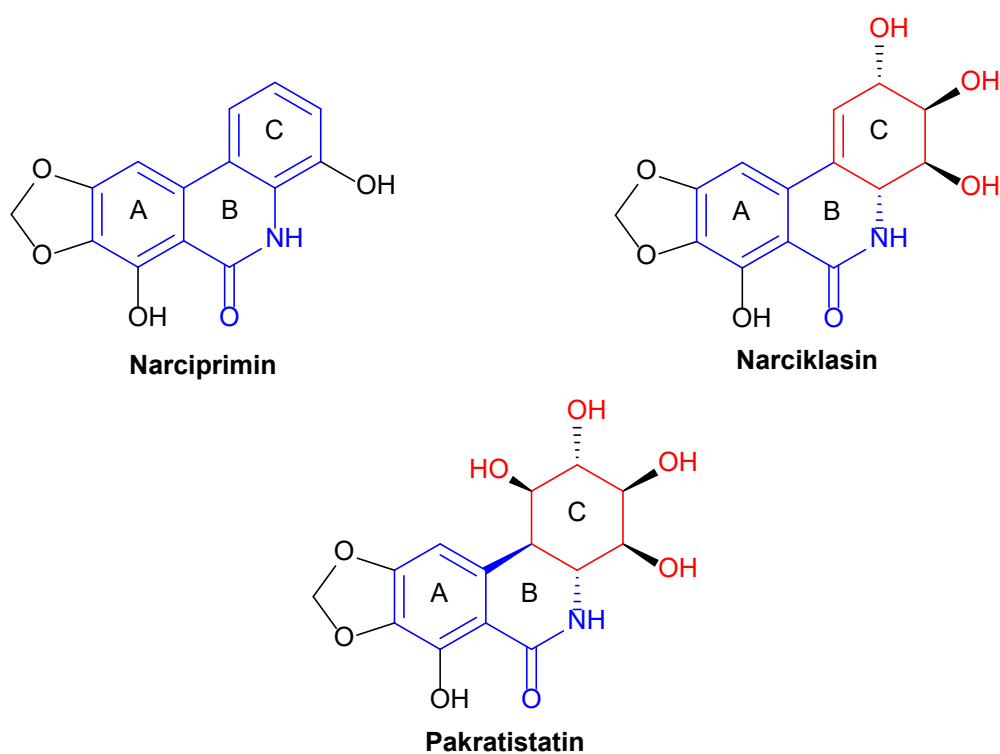
V roce 2012 byla u alkaloidu distichaminu izolovaného z *B. disticha* Herb a alkaloidu narcipriminu izolovaného z *C. contractus* N.E.Br. spolu s dalšími šesti AmA zkoumána antineoplastická aktivita vůči kancerogenním buněčným liniím CEM, G-361, HeLa, K562 a MCF7 a normální buněčné linii BJ pomocí metody Calcein AM s použitím galathaminu jako negativní a staurosporinu jako pozitivní kontroly. Výsledné hodnoty IC_{50} (μM) byly odečteny po 72 h (Tab. 9). Galanthamin stejně jako dva další alkaloidy galanthaminového typu (lykoramin a narwedín) vykazovaly jen velice malou aktivitu vůči všem buněčným liniím. Alkaloidy distichamin, haemanthamin i lykorin byly aktivní vůči kancerogenním i normálním buněčným liniím. Homolykorin vykazoval aktivitu pouze vůči buněčným liniím CEM, G-361 a K562 a narciprimin pouze vůči buněčné linii CEM. Buphanidrin, který se od struktury distichaminu odlišuje zejména umístěním dvojné vazby mezi uhlíkovými atomy C1 a C2 namísto C2 a C3, nevykazoval žádnou významnou aktivitu vůči kterémukoli testovaným kancerogenním buněčným liniím (Obr. 104) [134].



Obr. 104: Strukturální odlišnosti alkaloidů buphanidrinu a distichaminu

Jelikož oba alkaloidy distichamin a narciprimin vykazovaly aktivitu vůči buněčné linii CEM, byly dále podrobeny dalšímu zkoumání s využitím průtokové cytometrie k určení míry distribuce CEM buněk v různých fázích buněčného cyklu, a také ke stanovení podílu frakce sub-G1 jakožto podílu apoptických buněk při třech různých koncentracích (1, 10 a 20 μM). V porovnání s neléčenými buňkami docházelo působením distichaminu v závislosti na dávce ke zvyšování počtu buněk CEM ve fázi G2/M a snižování jejich počtu ve fázích G0/G1 a S. Podobné účinky byly zaznamenány i u narcipriminu (zvýšení podílu buněk ve fázi G2/M a snížení ve fázích G0/G1 a S). Po 24hodinovém působení distichaminu se navíc navýšil podíl frakce apoptických buněk (až na 23,7 %), na rozdíl od narcipriminu, jehož činnost se i při nejvyšší testované koncentraci navýšil podíl frakce sub-G1 pouze mírně. Kromě toho byla v buňkách CEM vystavených 24hodinovému působení distichaminu či narcipriminu při daných třech koncentracích (1, 10 a 20 μM) zkoumána i aktivita efektorových kaspas 3 a 7 s využitím Ac-DEVD-AMC (fluorogenního substrátu) a/nebo Ac-DEVD-CHO (inhibitoru kaspasy 3 a 7). Zatímco narciprimin při nejvyšší testované koncentraci vyvolal ve srovnání s neléčenými buňkami pouze nízký

nárůst aktivity kaspas 3 a 7 (1,8násobný), distichamin při stejné koncentraci indukoval nárůst aktivity 12,5násobný. Tento nárůst vedl také ke změnám v expresi bílkovin, jež souvisí s procesem apoptózy. Analýzou Western blot bylo v buňkách CEM vystavených působení distichaminu prokázáno zvýšení hladin supresorového proteinu p53, a naopak snížení hladin antiapoptického proteinu Mcl-1, který je pro životaschopnost buněk nezbytný. V buňkách CEM vystavených působení narcipriminu byly pozorovány pouze změny v expresi proteinu p53. Nízká antineoplastická aktivita narcipriminu se vysvětluje přítomností aromatického planárního kruhu C fenanthridonového skeletu, který je např. u silné fenanthridonové protinádorové látky narciklasinu pouze částečně nasycený a trihydroxy-substituovaný, anebo u silně protinádorově potentní látky pankratistatinu zcela nasycený a tetrahydroxy-substituovaný (Obr. 105) [121, 134, 135].



Obr. 105: Strukturní odlišnosti alkaloidů narcipriminu, narciklasinu a pankratistatinu v souvislosti s jejich antineoplastickou aktivitou

Tab. 9: Antineoplastická aktivita IC₅₀ (μM) zkoumaných AmA [134]

	CEM	G-361	HeLa	K562	MCF7	BJ
Buphanidrin	>50	>50	>50	>50	>50	26,2 ± 3,3
Distichamin	4,5 ± 1,6	14,7 ± 0,1	2,2 ± 0,1	4,1 ± 0,9	2,3 ± 0,8	10,5 ± 1,9
Haemanthamin	2,1 ± 0,4	3,7 ± 0,4	7,0 ± 2,2	3,4 ± 1,6	8,1 ± 3,3	2,7 ± 0,2
Homolykorin	15,0 ± 5,3	32,9 ± 6,0	>50	19,4 ± 0,8	>50	20,8 ± 2,3
Lykoramin	>50	>50	>50	>50	>50	>50
Lykorin	1,6 ± 0,0	5,0 ± 0,3	10,6 ± 0,9	3,6 ± 1,2	13,0 ± 2,9	1,9 ± 0,1
Narciprimin	13,3 ± 2,5	>50	>50	>50	>50	7,9 ± 0,2
Narwedín	31,6 ± 8,3	>50	>50	>50	>50	>50
Galanthamin	>50	>50	>50	>50	>50	>50
Staurosporin	0,023 ± 0,002	Netestováno	0,175 ± 0,007	Netestováno	0,064 ± 0,002	0,002 ± 0,000

O rok později byla publikována studie, jež také zkoumala antineoplastickou aktivitu sedmi alkaloidů (ambellinu, buphanidrinu, buphanisinu, distichaminu, distichaminolu, krininu, lykorinu a undulatinu) izolovaných *B. haemanthoides* F.M.Leight. vůči kancerogenním buněčným liniím CEM, HeLa a MCF7 a normální buněčné linii BJ pomocí metody Calcein AM s využitím galathaminu jako negativní a staurosporinu jako pozitivní kontroly. Významnou aktivitu vůči těmto liniím však opět prokázal pouze lykorin ($IC_{50; CEM} = 1,8 \pm 0,1 \mu M$, $IC_{50; HeLa} = 8,9 \pm 2,6 \mu M$, $IC_{50; MCF7} = 9,2 \pm 2,1 \mu M$, $IC_{50; BJ} = 2,0 \pm 0,4 \mu M$) a distichamin ($IC_{50; CEM} = 5,1 \pm 0,6 \mu M$, $IC_{50; HeLa} = 4,0 \pm 0,4 \mu M$, $IC_{50; MCF7} = 2,3 \pm 0,8 \mu M$, $IC_{50; BJ} = 12,4 \pm 2,2 \mu M$). Všechny ostatní sloučeniny vykazovaly jen velmi nízkou aktivitu vůči všem testovaným buněčným liniím ($IC_{50} = >50 \mu M$) [136].

6.1.6 Rod *Brunsvigia* Heist.

Studie publikovaná v roce 1998 se zkoumala protinádorová aktivita dvou synteticky připravených derivátů (11-*O*-acetylambellinu a 3-*O*-acetylkrininu) čtyř alkaloidů izolovaných z cibulí *B. littoralis* R.A.Dyer (ambellinu, krininu, 1,2-*O*-diacetyllykorinu a lykorinu) vůči buněčné linii BL6. Výraznější aktivita byla však zaznamenána pouze u lykorinu ($IC_{50, BL6} = 1,8 \mu g/ml$) a 1,2-*O*-diacetyllykorinu ($IC_{50, BL6} = 8,9 \mu g/ml$). Ostatní alkaloidy ani připravené syntetické deriváty neprojevíly prakticky žádnou antiproliferativní aktivitu ($IC_{50, BL6} = >100 \mu g/ml$) [106]. O dva roky později byla antiproliferativní aktivita vůči buněčné linii BL6 zkoumána také u sedmi alkaloidů izolovaných z cibulí *B. radulosa* W.T.Aiton (anhydrolykorin-6-on, 1-*epi*-deacetylbowdensin, krinamin, hamayn, lykorin, 1-*O*-acetylnorpluviin a sternbergin; apohaemantamin je v současnosti pokládán za artefakt) [8, 105]. Nejsilnější antiproliferativní aktivitu vykazoval krinamin, lykorin a 1-*O*-acetylnorpluviin, zatímco u alkaloidů anhydrolykorin-6-onu, hamaynu a sternberginu se již provila aktivita nižší a 1-*epi*-deacetylbowdensin byl neaktivní (Tab. 10). Ani jedna z těchto látek však nevykazovala silnější antiproliferativní aktivitu než použitý standard daunomycin [105].

Tab. 10: Souhrn naměřených hodnot antiproliferativní aktivity IC ₅₀ (µg/ml) zkoumaných alkaloidů <i>B. radulosa</i> W.T.Aiton [105]	
	BL6
Anhydrolykorin-6-on	3,3
1-epi-Deacetylbowdensin	>100
Krinamin	1,8
Hamayn	9,4
Lykorin	1,8
1-O-Acetylnorpluviin	1,6
Sternbergin	3,5
Chlorochin st	20,9
Daunomycin st	0,43

6.2 Antiprotozoální aktivita

6.2.1 Protozoální onemocnění

Protozoální onemocnění jsou způsobována některými parazitickými jednobuněčnými mikroorganismy podříše Protozoa (prvoci) [137, 138]. V průběhu evoluce si protozoicí parazité vyvinuli řadu adaptačních mechanismů nejen k rozpoznání a vyhledání vhodného (mezi)hostitele, ale také k umožnění adheze a penetrace hostitelských buněk, využití látek získávaných z hostitelského organismu a úniku před obrannou odpovědí hostitelského organismu. K úspěšnému přenosu na dalšího hostitele jsou ovšem zapotřebí také vhodné reprodukční strategie, proto si parazitická protozoa během své existence vytvořila rafinované životní cykly. Protozoální parazitózy lze z hlediska rozšíření dělit na geopolitní (vyskytují se ve všech klimatických pásmech) a tropické (omezeny na subtropy a tropy) [138]. Mohou být šířeny cestou přímou (kontaktem sliznic, intrauterinně), anebo cestou nepřímou (vlivem nedostatečné hygieny, kontaktem s kontaminovanými potravinami či vodními zdroji či prostřednictvím ektoparazitického vektora-přenašeče) [127, 138]. Přenašečem nejčastěji bývá krev sající členovec [138]. Mezi celosvětově nejrozšířenější protozoální onemocnění s významným sociálním a ekonomickým dopadem jsou stále řazeny zejména malárie, leishmaniózy a trypanosomózy. Současné léčebné režimy nejsou vůči těmto nemocem v mnoha případech dostatečně účinné a potýkají se s problémem toxicity při dlouhodobém podávání. Vývoj nového léku s antiparazitickou aktivitou je v dnešní době zvláště vyžadován kvůli vznikající celosvětové lékové rezistenci [19]. Vzhledem k tomu, že alkaloidy izolované z rostlin endemických rodů zpracovaných v této práci vykazovaly zejména antimalarickou aktivitu, je následující část práce věnována popisu tohoto onemocnění.

6.2.2 Malárie

Tato tropická protozoóza je způsobována parazitskými druhy rodu *Plasmodium* (u člověka zejména druhy *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*, a v ojedinělých případech i *Plasmodium knowlesi*, jehož přirozenými hostiteli jsou makaci v Jihovýchodní Asii) [127, 138, 139]. Malárii ovšem vyvolávají i další druhy plasmodií u některých teplokrevných i studenkrevných obratlovců (primátů, ptáků, hlodavců a plazů) [139]. Malarická plasmodia jsou bez ohledu na typ hostitele přenášena pouze krev sajícími samičkami komára rodu *Anopheles*, a to nejčastěji za soumraku a v noci [127, 138-141]. Samečci tohoto rodu malárii nepřenášejí, jelikož se živí jen nektarem a rostlinnými šťávami [138]. Dle odhadů WHO byla v roce 2022 malárie endemická v 85 zemích a oblastech světa a globálně bylo za tento rok odhaleno cca 249 milionů případů malárie, z nichž přibližně 608 000 skončilo úmrtím pacienta [142]. Každoročně bývá největší počet nových případů i počet úmrtí zaznamenán v tropické Africe [139, 142]. V roce 2022 byla téměř polovina všech nových případů odhalena v pouhých čtyřech afrických zemích, a to v Nigerii (26,8 %), Demokratické republice Kongo (12,3 %), Ugandě (5,1 %) a Mosambiku (4,2 %). Ve stejném roce byla více než polovina všech úmrtí na malárii zaznamenána také pouze ve čtyřech zemích Afriky: Nigérii (31,1 %), Demokratické republice Kongo (11,6 %), Nigeru (5,6 %) a Tanzanské republice (4,4 %) [142]. Kromě v tropických a subtropických oblastech Afriky se malárie vyskytuje zejména v jihovýchodní Asii a Indii, v amazonské oblasti Jižní Ameriky a na některých ostrovech v západním Tichomoří [139, 141]. Největší procento všech infekcí celosvětově ročně vyvolá *P. vivax* (cca 80 %), dále *P. falciparum* (cca 15 %) a zbylých 5 % *P. malariae* a *P. ovale* [139]. Životní cyklus všech plasmodií se skládá ze dvou fází: exogenní sexuální fáze probíhající v těle vektora a endogenní asexuální fáze, která se uskutečňuje v těle hostitele [139]. Exogenní fáze je zahájena nasátím krve vektorem z infikovaného hostitele, jehož červené krvinky obsahují nezralá sexuální stadia plasmodií (samčí a samičí gametocyty) [127, 140]. Gametocyty se uvolňují ve střevech komára, kde se z nich po dozrání a kopulaci vyvíjí pohyblivé ookiny a následně větší kulaté oocysty [139]. V oocystách se vytváří velké množství infekčních stádií plasmodií (sporozoitů), která se po dozrání z oocyst uvolní a přemístí se do slinných žláz vektora, kde dokáží přežít i delší dobu [139, 140]. Přenosem sporozoitů ze slinných žláz vektora do krve dalšího hostitele začíná endogenní fáze životního cyklu plasmodií [139]. Endogenní fáze se dělí na fázi jaterní (extraerytrocytární), která dle druhu plasmodia trvá 1-2 týdny, a fázi krevní (erytrocytární) [127, 140]. Jaterní fáze je započata zanesením sporozoitů krevním oběhem do jater, kde dochází k infekci hepatocytů, ve kterých se poté nepohlavně množí (rostou a jejich jádro se opakovaně dělí za vzniku schizontů). Po 6-10 dnech vývoje se mnohjaderní schizonti rozpadají a vznikají tak asexuální stadia plasmodií (merozoity) [127, 139, 140]. Sporozoiti *P. ovale* a *P. vivax* nemusí v hepatocytu ihned zahájit dělení. Mohou se také přeměnit v tzv. spící stadia (hypnozoity). Hypnozoiti jsou schopni

se znovu aktivovat a začít se dělit i po uplynutí několika měsíců nebo let. Proto na rozdíl od *P. falciparum*, *P. malariae* a *P. knowlesi* způsobují tzv. relapsy či oddálený klinický nástup malárie [139, 140]. Následně uvolněním merozoitů z hepatocytů do krve, kde okamžitě (cca do 30 sekund) napadají erythrocyty, nastupuje krevní fáze. V erythrocytech se merozoity opakovaně nepohlavně množí a opět vznikají mnohojaderní schizonti podobně jako předtím v játrech [127, 139, 140]. Nakažené červené krvinky naplněné parazity nakonec praskají. Kromě nových merozoitů napadajících další erythrocyty se z rozpadnutých erythrocytů do krve uvolňují také metabolické produkty plasmodií (zejména malarický toxin a hemozoin, známý také jako malarický pigment, který vzniká oxidací hemu po degradaci hemoglobinu) a pyrogeny způsobující malarický záchvat [127, 139, 141]. Projevy malarického záchvatu jsou vzájemně vystupňovány také reakcí imunitního systému [139, 141]. Na rozdíl od jaterní fáze, kde jsou sporozoity chráněny tzv. cirkumsporozoitovým proteinem (CPS), odpovídá imunitní systém napadeného organismu během erythrocytární fáze především mechanismy nespecifické imunity. Parazitární antigeny a metabolity jsou rozeznávány monocyty a posléze jsou za účasti neutrofilů a makrofágů fagocytovány. Neutrofilů navíc vytvářejí antimikrobiální peptidy a tzv. neutrofilovou extracelulární past produkující reaktivní formy kyslíku [139]. Makrofágy mimoto zase odpovídají na přítomnost metabolických produktů plasmodií nadměrnou produkcí prozánětlivých cytokinů [139, 141]. Složky specifické imunity nejsou ze zatím nejasného důvodu proti plasmodiím efektivní [139]. Malarické záchvaty se po určité době pravidelně opakují podle periodicity množení jednotlivých druhů plasmodií: *P. malariae* po 72 h (tzv. kvartána/čtyřdenní malárie), *P. ovale* a *P. vivax* po 48 h (tzv. terciána/třídenní malárie) *P. falciparum* po 24-48 h (tzv. tropika) a *P. knowlesi* po 24 h (tzv. kvotidiána/dvoudenní malárie) [127, 139-141]. Merozoity *P. ovale* a *P. vivax* vyvolávají mírnější formy malárie, jelikož napadají pouze mladá stádia červených krvinek (tzv. retikulocyty), která tvoří pouze 1-2 % všech erythrocytů v krevním oběhu. Mírnou formu malárie zapříčiňuje i nákaza *P. malariae*, jejíž merozoity napadají naopak pouze staré červené krvinky. Merozoity *P. falciparum* a *P. knowlesi* ovšem infikují červené krvinky různého stáří, a způsobují tak závažné formy malárie, které bez včasné léčby bývají fatální [139-141]. Některé merozoity se v erythrocytech přeměňují na gametocyty a životní cyklus parazita začíná po opětovném nasátí vektorem nanovo [127, 139, 140].

6.2.2.1 Klinický obraz

Inkubační doba se liší dle druhu plasmodia, které onemocnění vyvolává (tropika pouze cca 6-10 dní, terciána v průměru 10-17 dní, kvartána 18-40 dní a kvotidiána okolo 12 dní) [139, 140]. První příznaky připomínají spíše běžné chřipkové onemocnění, projevující se nárůstem teploty, únavou, bolestí svalů a kloubů, bolestí hlavy a u zvláště u dětí také průjemem [139]. Horečky jsou v prvních dnech nepravidelné, později se však synchronizují v rámci opakovaných malarických záchvatů [139, 141]. Typický malarický záchvat je složen ze tří fází. První je

fáze zimnice projevující se pocitem silného chladu až mrazení a třesavkou. Pacient je malátný, jeho kůže je bledá a objevuje se cyanóza prstů a rtů. Dalšími častými projevy jsou také bolesti hlavy, bolesti končetin a zad, hučení v uších a mírný průjem. Za 15 minut až dvě hodiny začíná druhá fáze horečky, kdy se teplota nemocného zvyšuje až na 39-41,5 C a je doprovázena hypotenzí, tachykardií a tachypnoí. Pacient bývá neklidný, dezorientovaný až delirantní. Doba trvání této fáze závisí na druhu plasmodia (2-6 h nebo i více). V poslední fázi teplota klesá. Nemocný se silně potí, pociťuje úlevu a usíná vyčerpáním. Pokud je jedinec vystavován častým reinfekcím, mívá poté spíše jen mírný průběh onemocnění [138]. Jak se malárie dál rozvíjí, objevuje se u většiny pacientů také hepatosplenomegalie a často také subikterus sklér a kůže [139, 141]. U kvartány a terciány je typickým časným symptomem trombocytopenie [140]. U tropiky (nejzávažnější formy malárie) mohou bez včasné léčby účinnými antimalariky nastat během pouhých několika dnů závažné až smrtelné komplikace způsobené jednak vysokou produkcí parazitárních antigenů, jednak akumulací infikovaných i neinfikovaných červených krvinek ve vnitřních orgánech, což se může projevit poruchami mikrocirkulace až závažnou tkáňovou hypoxií a šokovým stavem s multiorgánovým selháváním a následnou smrtí [139, 140]. Tento těžký průběh tropiky je označován také jako maligní či cerebrální malárie, při níž se objevuje i výrazná anémie, žloutenka, oligo- či až anurie, úporné zvracení, krvácivé projevy nebo také edém plic až respirační selhání, a pokud dochází i k postižení mozku, jeho poškození se manifestuje poruchami vědomí, křečemi a v nejhorším případě rozvojem kómatu [139-141]. Onemocní-li malárií těhotná žena-cetovatelka, mívá zpravidla těžší průběh onemocnění a v důsledku shlukování plasmodií i v intervilózních prostorech placenty dochází k potratu, odumření plodu či k předčasnému porodu a nízké porodní váze novorozence. Ženy žijící v endemických oblastech si následkem opakovaných nákaz postupně vybudují protektivní imunitu. Kongenitální malárií tedy také častěji trpí novorozenci neimunních matek [138].

6.2.2.2 Terapie, prevence a rezistence

Terapie vhodným antimalarikem by měla být nasazena ihned po pozitivním diagnostickém průkazu [139]. Kromě toho je třeba také zohlednit současný klinický stav pacienta, výši hladiny parazitémie (u terciány a kvartány hladiny parazitémie zpravidla nepřesahují 1 %, zatímco u tropiky naopak bývají >2 %), zda daný pacient pobýval v oblasti s vysokou rezistencí, zda už byl navrhovaným léčivem v minulosti léčen či užíval-li ho profylakticky [139-141]. Pacienti s hladinou parazitémie $\geq 5\%$ nebo s příznaky či s laboratorně prokázanou nákazou tropické malárie by se měli vždy hospitalizovat [140]. Pokud ovšem diagnostický průkaz není při aktuálním podezření na malárii z důvodu nedostupnosti lékařské péče možný, volí se léčba empiricky [139]. Antimalarická léčiva lze dělit do tří skupin podle toho, na které vývojové stadium plasmodií působí (krevní schizonti, jaterní hypnozoiti či gametocyty; Tab. 11), a do čtyř skupin podle jejich možné indikace (akutní malarický záchvat, radikální terapie vůči

hypnozoitům v hepatocytech, prevence přenosu malárie a chemoprolaxe; Tab. 12) [127]. Chemoprolaxí se rozumí užívání zvolených antimalarik před, během i po pobytu ve vysoce rizikové endemické oblasti [127, 140]. Vhodná chemoprolaxe se vybírá v závislosti na zdravotním stavu a věku cestovatele, na délce a charakteristice pobytu a na pravděpodobnosti výskytu *P. falciparum* a rezistence v dané destinaci [140]. V případě setrvávání v oblastech s nízkým rizikem malárie nebo při dlouhodobém pobývání v odlehlých oblastech bez dostupné lékařské péče je možné namísto preventivního užívání antimalarik u sebe nosit tzv. pohotovostní samoléčbu (stand-by therapy), kterou cestovatel ihned nasazuje při podezření na onemocnění malárií (nejdéle třetí den po objevení prvních symptomů) [127, 140]. Před vektorem-komárem je možné se chránit pomocí moskytiér, sítí v oknech a dveřích, repelentů (př. DEET), insekticidů, nošení světlého volného oblečení s dlouhými nohavicemi a rukávy a redukcí počtu líhnišť (expoziční profylaxe) [127, 139, 140].

Tab. 11: Dělení antimalarik dle jejich účinnosti vůči vývojovým stádiím plasmodií – příklady [127]	
Vývojové stádium	Látka s antimalarickou aktivitou
Schizonti	Artemisinin, Atovachon, Dapson, Doxycyklin, Halofantrin, Hydroxychlorochin, Chinin, Chlorochin, Klindamycin, Meflochin, Proguanil, Pyrimetamin
Gametocyty	Primachin, Proguanil, Pyrimetamin
Hypnozoiti	Primachin

Tab. 12: Dělení antimalarik dle jejich indikace – příklady [127]	
Indikace	Látka s antimalarickou aktivitou
Akutní záchvat	Artemisinin, Dapson, Doxycyklin, Halofantrin, Hydroxychlorochin, Chinin, Chlorochin, Meflochin, Pyrimetamin
Prevence přenosu	Primachin, Proguanil, Pyrimetamin
Radikální terapie	Primachin
Chemoprolaxe	Chlorochin, Meflochin, Dapson, Doxycyklin, Proguanil + Chlorochin nebo Proguanil + Atovachon, Pyrimetamin

Roku 1820 se první izolovanou antimalaricky působící látkou z kůry jihoamerické rostliny *Cinchona officinalis* L. stal chinin, který se ovšem mimo kombinační léčbu ve vyspělých zemích pro své nežádoucí arytmogenní účinky a pro nebezpečí vzniku cinchonismu již běžně neužívá [139, 140, 143]. Dalším důležitým bodem historie léčby malárie byl objev chlorochinu, který se od roku 1955 užívá k léčbě i prevenci infekcí *P. malariae*, *P. ovale* a *P. vivax* [139, 140]. Chlorochin lze s výhodou využít k terapii pacientů všech věkových kategorií a dobře jej

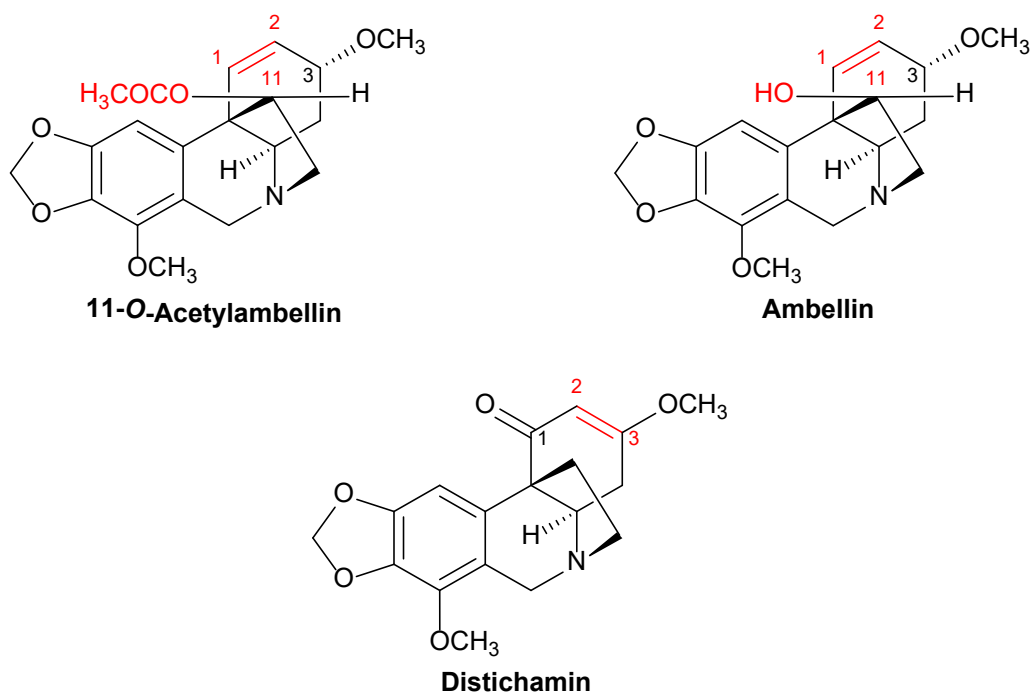
snáší také těhotné a kojící ženy. Použití v léčbě infekcí způsobených *P. falciparum* je omezené, vzhledem k široce rozšířené rezistenci mnoha kmenů tohoto druhu [139]. Roku 1972 se podařilo izolovat další významnou sloučeninu s antimalarickou aktivitou – artemisinin z rostliny *Artemisia annua* L., u nějž se později ukázalo, že má i antivirové a antiproliferativní účinky [139, 144]. Jeho předností je vyšší účinnost a nižší toxicita v porovnání s chlorochinem a v dnešní době jsou artemisinové deriváty (např. artemer a artesunát) prakticky celosvětově léčivý první volby u nekomplikované tropické malárie (*p.o.*) i u těžké maligní malárie (*i.v.*). Dle doporučení WHO jsou používána také další antimalarika a jejich vzájemné kombinace nebo kombinace s některými antibiotiky (např. *i.v.* aplikace kombinace chininu s doxycyklinem nebo klindamycinem) [139, 140]. Při nesnášenlivosti chlorochinu lze aplikovat také meflochin, kombinaci atovachonu a proguanilu či od roku 1999 také kombinaci artemeru a lumefantrinu. K radikální terapii (eliminaci hypnozoitů *P. ovale* a *P. vivax*) je dodnes možné použít pouze primachin, který se pro svou schopnost inhibice vývoje gametocytů ve vektorech využíval také k prevenci přenosu malárie [139].

6.2.3 Rod *Amaryllis* L.

Nedávná studie (2017) antiprotozoální aktivity *A. belladonna* L. *in vitro* poukázala zejména na biologickou aktivitu jednoho ze zkoumaných alkaloidů přítomných v surovém methanolovém extraktu sušených cibulí této rostliny. 3-O-Acetylhamayn v porovnání s ostatními testovanými alkaloidy (1-O-acetylkararin, buphanamin) i surovým methanolovým extraktem vykázal v testech na antiprotozoální aktivitu nejvyšší účinnost proti všem referenčním kmenům *Trypanosoma brucei rhodesiense* STIB 900, *Trypanosoma cruzi* Tulahuen C4 LacZ, *Leishmania donovani* MHOM-ET-67/L82 a *P. falciparum* NF54 (Tab. 13). Tyto naměřené hodnoty IC₅₀ pro 3-O-acetylhamayn však stále byly výrazně vyšší než pro odpovídající standardy: melarso-prol (*T. b. rhodesiense*); benznidazol (*T. cruzi*); miltefosin (*L. donovani*); chlorochin (*P. falciparum*). Navíc vzhledem k dříve zmíněné současné antineoplastické aktivitě 3-O-acetylhamaynu není možné tento alkaloid považovat za čistě antiprotozoálně působící látku [19].

Tab. 13: Antiprotozoální aktivita IC₅₀ (µg/ml) surového methanolového extraktu a z něj izolovaných alkaloidů z <i>A. belladonna</i> [19]				
	<i>T. b. rhodesiense</i> STIB 900	<i>T. cruzi</i> Tulahuen C4 LacZ	<i>L. donovani</i> MHOM-ET-67/L82	<i>P. falciparum</i> NF54
Surový methanolový extrakt	4,67	34,9	>100	1,17
Buphanamin	28,2	62,9	>100	25,9
1-O-acetylkararin	1,97	35,9	>100	3,21
3-O-acetylhamayn	1,51	8,3	17,9	1,14
Melarsoprol ³	0,0035 ^a ; 0,0010 ^b			
Benznidazol st		0,660 ^a ;1,080 ^b		
Miltefosin st			0,085 ^a ; 0,091 ^b	
Chlorochin st				0,002 ^{a, b}
Legenda k tabulce: ^a = referenční hodnoty pro 1-O-acetylkararin; ^b = referenční hodnoty pro ostatní izolované alkaloidy a surový methanolový extrakt				

V rámci další studie z roku 2018 byla stanovena antiplasmodiální aktivita šesti alkaloidů izolovaných z methanolového extraktu cibule *A. belladonna* L. vůči chlorochin-rezistentnímu kmeni *P. falciparum* Dd2. Nejvyšší inhibiční aktivitu vykazoval 1-O-acetylkararin s hodnotou IC₅₀ = 3,5 ± 0,3 µM. Druhá sloučenina lykorinového typu – pratorin (hippadin), nevykazovala žádnou antiplasmodiální aktivitu i přes svou strukturní podobnost s 1-O-acetylkararinem. Za neaktivitu je nejspíše zodpovědná rozdílná konjugace a poloha substituentů v tetrahydro-fenantridinové části molekuly. Ostatní čtyři zkoumané alkaloidy krininového typu vykazovaly slabší inhibiční aktivitu v pořadí: ambellin, IC₅₀ = 7,3 ± 0,3 µM; 11-O-acetylabellin, IC₅₀ = 35 ± 1 µM; 1,4-dihydroxy-3-methoxy-powellan, IC₅₀ = 37 ± 3 µM; a distichamin, IC₅₀ = >50,0 µM. Distichamin navzdory své blízké strukturní podobnosti s ambellinem a 11-O-acetylabellinem vykazoval pouze slabou inhibiční aktivitu. Inhibiční aktivita alkaloidů krininového typu tedy může být způsobená přítomností dvojně vazby mezi uhlíkovými atomy C1 a C2 (Obr. 106). Rozdílná antiplasmodiální aktivita mezi sloučeninami 11-O-acetylabellinem a ambellinem se vysvětluje možnou oxy-substitucí na uhlíkovém atomu C11, která zřejmě vede k nižší inhibiční aktivitě 11-O-acetylabellinu (Obr. 106). Vzhledem ke své relativně dobré antiplasmodiální aktivitě a zároveň nedostatečné antiproliferativní aktivitě vůči buňkám A2780 (viz antiproliferativní aktivita *A. belladonna* L.) byly alkaloidy ambellin a 1-O-acetylkararin označeny za vhodné látky k dalšímu zkoumání pro vývoj nových antimalarik [94].



Obr. 106: Strukturální rozdíly alkaloidů 11-O-acetylbambellinu, bambellinu a distichaminu v souvislosti s antiplasmodiální aktivitou

Po uvedení bambellinu jakožto potenciálně vhodné látky k dalšímu zkoumání antimalarické aktivity v předchozí studii, byla roku 2023 publikována studie, která se zabývala zkoumáním antimalarické aktivity 28 AmA včetně bambellinu a haemanthaminu, 20 semisyntetických derivátů bambellinu a 11 semisyntetických derivátů haemanthaminu vůči jaterní fázi infekce způsobené protozoickým parazitem *Plasmodium berghei* *in vitro*. Žádný z 28 zkoumaných alkaloidů však nevykazoval významnou antiplasmodiální aktivitu vůči jaterním formám *P. berghei* a aktivita haemanthaminových derivátů byla v porovnání s aktivitami některých derivátů bambellinu nižší. U vybraných derivátů bambellinu s nejvýznamnější aktivitou (do 5 μM) byly posléze stanoveny i hodnoty IC_{50} s využitím primachinu jako standardu (Tab. 14). V rámci porovnávání získaných hodnot IC_{50} těchto derivátů se ukázalo, že alifatické estery bambellinu nevykazují žádnou významnou aktivitu, zatímco všechny aromatické estery bambellinu byly aktivnější než použitý standard. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u synteticky připravených derivátů 11-O-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)bambellinu a 11-O-(3,5-dimethoxybenzoyl)bambellinu. U chlorem substituovaných sloučenin 11-O-(2-chlor-4-nitrobenzoyl)bambellinu a 11-O-(4-chlor-3-nitrobenzoyl)bambellinu nebylo možné stanovit hodnotu IC_{50} kvůli skutečnosti, že jejich antimalarická aktivita naměřená v počátečním screeningu nebyla závislá na dávce [145].

Tab. 14: Inhibiční aktivita IC₅₀ (μM) ambellinových derivátů vůči jaterním formám <i>P. berghei</i> a jejich hepatotoxický potenciál [145]		
	IC ₅₀ (μM)	% životnosti buněk HepG2 ve srovnání s neléčenou kontrolou (100 %); c = 10 μM
Ambellin	>10	50 ± 1
11-O-Acetylabellin	>10	107 ± 3
11-O-Propionylambellin	>10	58 ± 4
11-O-Isobutanoylabellin	>10	95 ± 6
11-O-Pentanoylabellin	4,08 ± 1,78	71 ± 7
11-O-Benzoylabellin	0,726 ± 0,126	95 ± 7
11-O-(3-Methylbenzoyl)ambellin	0,317 ± 0,118	75 ± 1
11-O-(4-Methylbenzoyl)ambellin	0,402 ± 0,081	50 ± 6
11-O-(3,5-Dimethylbenzoyl)ambellin	0,100 ± 0,018	74 ± 13
11-O-(2-Methoxybenzoyl)ambellin	2,40 ± 0,77	86 ± 2
11-O-(3-Methoxybenzoyl)ambellin	0,261 ± 0,090	81 ± 10
11-O-(4-Methoxybenzoyl)ambellin	0,451 ± 0,007	88 ± 2
11-O-(3,4-Dimethoxybenzoyl)ambellin	0,147 ± 0,018	99 ± 9
11-O-(3,5-Dimethoxybenzoyl)ambellin	0,048 ± 0,014	87 ± 6
11-O-(3,4,5-Trimethoxybenzoyl)ambellin	0,047 ± 0,000	52 ± 2
11-O-(3,5-Diethoxybenzoyl)ambellin	0,316 ± 0,013	56 ± 8
11-O-(3-Nitrobenzoyl)ambellin	1,53 ± 0,22	75 ± 6
11-O-(4-Nitrobenzoyl)ambellin	1,20 ± 0,18	53 ± 6
11-O-(4-Methyl-3-nitrobenzoyl)ambellin	0,410 ± 0,054	65 ± 8
11-O-(2-Chloro-4-nitrobenzoyl)ambellin	Netestováno	54 ± 6
11-O-(4-Chloro-3-nitrobenzoyl)ambellin	Netestováno	15 ± 2
Primachin st	5,74 ± 0,86	
Doxorubicin st		66 ± 8

Ambellin (alkaloid krininového typu; β-krinan) a haemanthamin (alkaloid haemanthaminového typu; α-krinan) mají velmi podobné struktury, včetně S-konfigurace na uhlíkovém atomu C11. Vyšší antiplasmodiální aktivita některých esterů ambellinu narozdíl od stejných esterů haemanthaminu je dle výsledků této studie zapříčiněna prostorovou orientací β-ethylenového můstku spolu s 11-O substitucí. Substitute, které vedly k nejvýraznějšímu zvýšení inhibiční aktivity, byly 3,5-disubstituce benzoylového zbytku elektrondonorovými skupinami

– methyl skupina u 11-O-(3,5-dimethylbenzoyl)ambellinu a methoxy skupina u 11-O-(3,5-dimethoxybenzoyl)ambellinu. Nižší aktivita 3,5-diethoxybenzoylového derivátu byla nejspíše zapříčiněna sterickým působením delšího alkylového řetězce etheru. Jediný zkoumaný trisubstituovaný benzoylový derivát 11-O-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)ambellin také vykazoval výraznou inhibiční aktivitu srovnatelnou s neaktivnějším 3,5-disubstituovaným derivátem 11-O-(3,5-dimethoxybenzoyl)ambellinem. Monosubstituce elektrondonorovými skupinami či substituce elektronakceptorovými skupinami (př. chlor nebo nitroskupina) vedla k nižší aktivitě příslušných benzoylových derivátů [145].

Několik vybraných neaktivnějších derivátů ambellinu bylo následně testováno i na antimalarickou aktivitu vůči krevním stádiím *P. falciparum* s využitím chlorochinu jakožto standardu, avšak žádný z nich v testovaných koncentracích nevykazoval dostatečnou aktivitu. Tato skutečnost byla ještě doplněna průběžným screeningem všech testovaných derivátů ambellinu na hepatotoxicitu pomocí testu alarmBlue, a následně také pomocí MTT testu s využitím doxorubicinu jako referenční látky a buněčné linie HepG2, jež je vhodná pro hodnocení hepatotoxicity xenobiotik a potenciálních nových léčiv. Žádná z testovaných sloučenin, kromě 11-O-(4-chloro-3-nitrobenzoyl)ambellinu, při koncentraci 10 μM , nevykazovala významnou hepatotoxickou aktivitu (životaschopnost buněk nebyla snížena pod 50 %). 11-O-(4-Chloro-3-nitrobenzoyl)ambellin byl však, jak bylo zmíněno výše, pro svou aktivitu nezávislou na dávce ze studie vyřazen. Všechny tyto výsledky naznačují, že by se vybrané syntetické deriváty ambellinu díky své specifické aktivitě vůči jaterním formám plasmodií a nevýznamné hepatotoxicitě mohly stát vhodnými sloučeninami pro další antiplasmodiální studie s cílem rozšíření skupiny léčiv určených k eliminaci spících stádií plasmodií [145].

6.2.4 Rod *Brunsvigia* Heist.

V roce 1998 byla publikována studie zaměřující se na zkoumání antimalarické aktivity vůči chlorochinsenzitivnímu (D10) a chlorochinrezistentnímu (FAC8) kmeni *P. falciparum* u čtyř alkaloidů izolovaných z cibulí *B. littoralis* R.A.Dyer (ambellinu, krininu, 1,2-O-diacetylylkorinu a lykorinu) s využitím chlorochinu ($\text{IC}_{50, \text{D10}} = 0,01 \mu\text{g/ml}$; $\text{IC}_{50, \text{FAC8}} = 0,09 \mu\text{g/ml}$) a artemisininu ($\text{IC}_{50, \text{D10}} = 0,004 \mu\text{g/ml}$; $\text{IC}_{50, \text{FAC8}} = 0,02 \mu\text{g/ml}$) jakožto standardů. Ambellin a krinin nevykazovaly prakticky žádnou aktivitu ($\text{IC}_{50; \text{D10, FAC8}} = >20 \mu\text{g/ml}$), zatímco 1,2-O-diacetylylkorin ($\text{IC}_{50, \text{D10}} = 1,0 \mu\text{g/ml}$; $\text{IC}_{50, \text{FAC8}} = 1,0 \mu\text{g/ml}$) a lykorin ($\text{IC}_{50, \text{D10}} = 0,62 \mu\text{g/ml}$; $\text{IC}_{50, \text{FAC8}} = 0,7 \mu\text{g/ml}$) vykazovaly pouze mírnou aktivitu. Dále byly ještě připraveny dva syntetické acetylderiváty (11-O-Acetylabellin a 3-O-Acetylkrinin) za účelem obměny struktur prakticky neaktivních alkaloidů ambellinu a krininu, avšak ani tyto nově připravené molekuly nevykazovaly žádnou významnou antimalarickou aktivitu ($\text{IC}_{50; \text{D10, FAC8}} = >20 \mu\text{g/ml}$) [106]. Aktivita vůči stejným kmenům *P. falciparum* byla zkoumána i v roce 2000 u sedmi alkaloidů izolovaných z cibulí *B. radulosa* W.T.Aiton (Tab. 15). Nejvyšší aktivity, i když stále nižší než zvolený standard

(chlorochin), dosahoval u obou kmenů opět alkaloid lykorin. Ostatní zkoumané alkaloidy vykazovaly u obou kmenů pouze mírnou antiplasmodiální aktivitu a 1-*epi*-deacetylbowdensin byl pro svou neuspokojivě nízkou aktivitu prohlášen za neaktivní [105].

Tab. 15: Souhrn naměřených hodnot antiplasmodiální aktivity IC₅₀ (µg/ml) zkoumaných alkaloidů <i>B. radulosa</i> W.T.Aiton [105]		
	D10	FAC8
Anhydrolykorin-6-on	6,1	6,4
1- <i>epi</i> -Deacetylbowdensin	>50	>50
Krinamin	2,8	3,4
Hamayn	15,6	18,2
Lykorin	0,6	0,7
1-O-Acetylnorpluviin	28,3	34,2
Sternbergin	3,9	4,8
Chlorochin st	0,002	0,01

6.2.5 Rod *Cyrtanthus* Aiton

Studie publikovaná roku 2001 se zabývala zkoumáním antiprotozoální aktivity u pěti alkaloidů (galanthaminu, haemanthaminu, haemanthidinu, 1,2-O-diacetylzephyranthinu a zephyranthinu) izolovaných z *C. elatus* vůči některým protozoickým parazitům. Antiprotozoální aktivita se ovšem projevila pouze u haemanthaminu a haemanthidinu. Haemanthamin vykazoval aktivitu vůči kmenu HK9 parazita *Entamoeba histolytica* ve stádiu trophozoitů (IC₅₀ = 0,75 µg/ml) s použitím ornidazolu jako standardu (IC₅₀ = 0,28 µg/ml) a slabou aktivitu vůči kmenu NF54 parazita *P. falciparum* (IC₅₀ = 0,67 µg/ml) ve srovnání se standardy artemisininem (IC₅₀ = 0,002 µg/ml) a chlorochinem (IC₅₀ = 0,004 µg/ml). Haemanthidin vykazoval podobnou aktivitu jako haemanthamin vůči *P. falciparum* (IC₅₀ = 0,70 µg/ml), avšak kromě toho u něj byla zaznamenána i aktivita vůči kmenu Tulahuen C4 parazita *T. cruzi* v trypomastigotním stádiu (IC₅₀ = 1,38 µg/ml) s využitím benznidazolu jako standardu (IC₅₀ = 0,56 µg/ml) a aktivita vůči kmenu STIB900 parazita *T. b. rhodesiense* v trypomastigotním stádiu (IC₅₀ = 1,1 µg/ml) v porovnání se standardem melarsoprolem (IC₅₀ = 0,002 µg/ml) [118].

6.3 Inhibiční aktivita vůči acetylcholinesterase a butyrylcholinesterase

6.3.1 Alzheimerova choroba

AD je závažné neurodegenerativní onemocnění, jež způsobuje progresivní a ireverzibilní odumírání nervových buněk v mozku. [146, 147]. V současnosti se jedná o nejčastější příčinu demence, a sedmou nejčastější příčinu smrti na světě [148, 149]. Incidence, stejně tak

jako prevalence demence obecně vzrůstá s věkem [146, 150, 151]. Ve světovém měřítku ovšem incidence v Evropě a Severní Americe klesla v průběhu posledních 20 let o přibližně 25 %, zatímco např. v Japonsku nebo Číně incidence i prevalence v průběhu posledních let výrazně stoupá. WHO varuje, že s rostoucím počtem starší populace se celosvětově očekává i nárůst počtu lidí s demencí, a to až na 139 milionů v roce 2050 v porovnání s 55 miliony v roce 2019. Zároveň se tím očekává i nárůst nákladů na péči o pacienty s demencí z 1,3 bilionu USD ročně v roce 2019 až na 2,8 bilionu USD do roku 2030 [148]. Průměrná délka života po diagnóze AD u pacientů starších 65 let se pohybuje mezi čtyřmi a osmi lety. Existují však i případy, kdy pacienti s diagnostikovanou AD žijí až 20 let [149]. Průběh tohoto dodnes nevyléčitelného onemocnění lze při včasné diagnóze dosavadní léčbou značně zpomalit zvláště v ranných stádiích AD [146, 150, 151].

6.3.1.1 Klinický obraz

Nástup AD bývá zpravidla nenápadný, plíživý, bez výraznějších výkyvů [146, 150]. V důsledku progresivního odumírání nervových buněk se však plynule narušuje chod klíčových mozkových funkcí až postupně nakonec dochází k těžké degradaci osobnosti [147, 150]. Ke klíčovým mozkovým funkcím se řadí přístup ke krátkodobé i dlouhodobé paměti, schopnost verbální a neverbální komunikace, schopnost řešit komplexní úlohy a integrovat informace, schopnost úsudku, logického uvažování a představivosti, schopnost motivace a schopnost využívat smysly [147, 150]. Nejdříve bývá postižen anticholinergní neurotransmiterový systém, a to narušením produkce acetylcholinu (Ach) v presynaptické části neuronu. To se projevuje zejména poruchami paměti a kognitivních funkcí, které již mají znatelný vliv na konání běžných denních aktivit postiženého [146]. Nemocní si v tomto lehčím stádiu AD své výpadky paměti a neschopnost udržet pozornost při řešení složitějších problémů ještě uvědomují, což u nich navíc často vyvolává depresivní stavy či jiné poruchy emoční sebekontroly (změny nálad, podrážděnost až afekty vzteku či lítosti). Ve středně těžkém a těžkém stádiu AD jsou zasaženy i další neurotransmiterové systémy jako např. glutamátergní, noradrelinový, serotoninový či GABA-ergní, a nemocní v těchto stádiích ztrácejí dříve ještě zachovalý náhled chorobnosti. Postupně se zhoršuje jejich dovednost obsluhovat jednoduché domácí spotřebiče, hospodařit se svými finančními prostředky a objevují se i behaviorální a psychologické příznaky (poruchy vnímání jako např. halucinace, iluze, bludy, a z toho plynoucí úzkostné stavy či paranoia), které pak nejvíce zatěžují zejména okolí postižených osob [146, 150]. Dále mohou být přítomny i různé poruchy spánku (noční nespavost, někdy doprovázená neklidem, až úplná spánková inverze) [150]. V posledním stádiu AD nemocní trpí časoprostorovou desorientací, nepoznávají své okolí ani nejbližší rodinné příslušníky a přichází o schopnost samostatné existence [146, 150].

6.3.1.2 Etiopatogeneze

Makroskopicky lze v mozcích postižených AD pozorovat rozšířené mozkové rýhy a komory a výrazné ztenčení mozkové kůry [146, 151]. Patologické změny zahrnující defekty neurogeneze, aktivaci mikroglií, poškození synapsí a ztrátu pyramidálních neuronů postihují všechny části mozku, obzvláště však oblast mediálního temporálního laloku. Etiopatogeneze AD dosud není zcela známá, avšak nově dostupná data naznačují, že se nejedná pouze o neurodegenerativní poruchu mozku, ale o systémové onemocnění, jehož příznaky se objevují také v krvi a periferních tkáních. Tyto příznaky mohou být vyvolány zánětlivými, metabolickými, oxidačními či dalšími biochemickými mechanismy [152]. Hypotéz vzniku AD bylo navrženo rovnou několik. Řadí se mezi ně např. hypotéza amyloidní (zvýšená kumulace β -amyloidu; A β), hypotéza tau (zvýšená agregace τ -proteinu), hypotéza cholinergní (snížená tvorba Ach), hypotéza neuroenergetická související s mitochondriální dysfuncí, hypotézy založené na deficitu nervového růstového faktoru či mozkově-derivovaného neurotrofického faktoru, anebo dříve zavrhaná a nyní znovu aktuální hypotéza infekční (potencionální infekční agens perzistující v mozku v latentní formě se vlivem stárnutí, stresu či snížené imunity aktivuje a vyvolá prozánětlivou imunitní odpověď) [146, 152]. Určitý podíl na vzniku AD mají i genetické faktory [146, 152, 153]. Na rozdíl od sporadických forem AD (nejasná etiologie; naprostá většina případů AD) byl u familiárních (dědičných) forem AD (FAD) zjištěn jasný přenos napříč několika generacemi autozomálně dominantním způsobem (1-5 % případů) [146, 152].

V lidském organismu se fyziologicky vytváří tzv. β -peptidy štěpením amyloidového prekurzorového proteinu (APP) enzymem α -sekretasou na plně rozpustné fragmenty o 39-40 AMK, které za normálních podmínek mají neuroprotektivní funkci. Patologicky je ovšem APP štěpen na odlišných lokusech enzymy β - a následně γ -sekretasou na fragmenty nerozpustné, složené ze 42 či více AMK. Tyto delší fragmenty poté vzájemným slučováním tvoří oligomery až fibrily, které poté extracelulárně koagulují a polymerují v A β [146]. Z polymerovaných molekul A β následně vnikají tzv. amyloidní plaky, kolem nichž se spouští sterilní zánětlivá reakce s nadměrným působením cytokinů souvisejícím se zvýšeným prostupem vápenatých iontů do nervových buněk, což zapříčiňuje jejich odumírání [146, 150].

Výše popsaná neurotoxicita A β při AD může mít spojitost i se vznikem tzv. intraneurálních neurofibrilárních klubek [146]. Tato klubka obsahují značné množství tzv. párových helikálních filament obsahujících hyperfosforylovanou nerozpustnou bílkovinu τ -protein [146, 151]. Ve zdravém lidském organismu se rozpustný τ -protein vyskytuje především v částečně fosforylovaném či zcela defosforylovaném stavu, kdy je prakticky všechen navázán na mikrotubuly, které stabilizuje a podílí se na zprostředkování jejich vzájemných interakcí s dalšími buněčnými organelami. Za patologických okolností τ -protein ztrácí svou schopnost vazby na mikrotubuly, uvolňuje se do cytosolu nervové buňky, kde následně agreguje s dalšími volnými

molekulami τ -proteinu za vzniku párových helikálních filament, jejichž tvorba zahrnuje několik reakčních kroků včetně hyperfosforylace, konformační změny proteinu a jeho následné polymerace. Hromaděním těchto polymerovaných útvarů v neurofibrilárních klubkách narušuje cytoarchitekturu nervových buněk, což nakonec vede k jejich apoptóze [146].

K neovlivnitelným rizikovým faktorům vzniku AD patří kromě věku a ženského pohlaví především genetické faktory. Jedním z těchto faktorů je nosičství specifické alely ϵ -4 genu pro apolipoprotein E4 (ApoE4) s lokusem na 19. chromozomu [146, 150, 151, 153]. Apolipoprotein E, jakožto bílkovinná součást krevních lipoproteinů, se fyziologicky v organismu podílí např. na transportu cholesterolu do krve. Vyskytuje se ovšem ve třech izoformách (E2, E3 a E4), z nichž právě přítomnost izoformy E4 je spojována s FAD s pozdním začátkem [146, 153]. ApoE4 přispívá k tvorbě $A\beta$ a usazuje se jak v amyloidních placích, tak v neurofibrilárních klubkách. Dle počtu alel pro ApoE4 vzrůstá výše rizika projevu AD během života jednotlivce následovně: populace bez alel (přibližně 9 %), heterozygoti (cca 29 %) a homozygoti (až 83 %) [153]. Dalším faktorem na bázi genetiky je výskyt Downova syndromu (trizomie 21. chromozomu) v rodině. Na 21. chromozomu se nachází lokus pro APP, který při svém patologicky zvýšeném štěpením na nerozpustné $A\beta$ peptidy může vést k časnému vzplanutí AD a její rychlejší progresi [146, 150, 151]. Mezi další geny, které kvůli mutaci zapřičiňují FAD s časným začátkem, lze přiřadit i gen pro presenilin 1 (lokus na 14. chromozomu), presenilin 2 (lokus na 1. chromozomu) a gen pro τ -protein (lokus na 17. chromozomu) [146, 152]. Preseniliny představují transmembránové proteiny, které jsou součástí γ -sekretázy. V rámci patologických procesů preseniliny interagují s APP a podílí se na tvorbě $A\beta$ [153]. Genetické abnormality v genu pro presenilin 1 jsou nejčastější (zapřičiňují přibližně 50 % všech FAD), zatímco mutace na genu pro presenilin 2 jsou vzácné [152].

K ovlivnitelným rizikovým faktorům AD lze přiřadit kouření, alkoholismus, vznik metabolického syndromu, fyzická inaktivita, sociální izolace, deprese, problémy se sluchem, znečištění ovzduší, dosažení nízké úrovně vzdělání v mládí a opakované úrazy hlavy v anamnéze [146, 148, 151]. Dle odhadů WHO by se dalo 3-20 procentům předpokládaných nových případů demence v následujících 20 letech předcházet, kdyby se podařilo implementovat opatření zaměřená právě na eliminaci těchto ovlivnitelných rizikových faktorů spojených s nepsychickými chorobami [148]. Mezi neurodegenerativní mechanismy, které ovšem nejsou specifické pouze pro AD, lze zařadit snížený metabolismus glukózy v nervových buňkách, nadměrnou tvorbu kyslíkových radikálů či poškození mitochondriálního metabolismu a oxidativní stres [146, 150]. Vzájemné ovlivňování všech výše uvedených neurodegenerativních mechanismů je stále předmětem výzkumu [150].

6.3.1.3 Terapie

K léčbě AD jsou v dnešní době využívány dvě hlavní skupiny léčivých látek [146]. První skupinu tvoří inhibitory AChE a BuChE, které blokují funkci těchto enzymů odbourávat neuromediátor Ach, a tím zvyšují jeho množství v synaptické štěrbině a prodlužují tak jeho schopnost vázat se na postsynaptické receptory a přenášet nervový vzruch [146, 151]. Zamezení odbourávání Ach působením AChE je důležité z několika důvodů. Při AD se snižuje syntéza enzymu acetylcholintransferasy zodpovědné za syntézu Ach, jednak se snižuje samotné vyplavování Ach z presynaptického zakončení a následně i vysoce afinitní reuptake Ach ze synaptické štěrbině [146]. Jak AChE, tak BuChE se v organismu vyskytuje ve třech izoformách (G1, G2 a G4), přičemž izoforma G2 je lokalizována zejména v periferních tkáních a izoformy G1 a G4 převážně v mozku. Zatímco izoforma G4 je nespecificky rozšířena po celém mozku, izoforma G1 se nachází zvláště v oblastech, které bývají u AD postiženy nejvíce (amygdala, hipokampus a mozková kůra). Isoforma G1 AChE je u pacientů s AD součástí amyloidní kaskády a společně s izoformou G1 BuChE se objevuje i v amyloidních placích [127]. Jak AD progreduje, mění se i hladiny jednotlivých izoform AChE i BuChE. Hladiny presynapticky lokalizované membránově vázané G4 AChE mohou být v některých oblastech mozku selektivně sníženy až o 90 %, zato hladiny postsynaptické G1 AChE buď zůstávají nezměněny, anebo se dokonce zvyšují [127, 154]. Hladiny G4 BuChE se nemění nebo postupně klesají, zatímco exprese G1 BuChE se v průběhu AD zvyšuje až o 30-60 %. V důsledku odlišné selektivity inhibitorů cholinesteras vůči jednotlivým isoformám AChE či BuChE, působí tyto látky v různých částech mozku s výrazně rozdílnou účinností [154]. U pacientů s AD je tedy výhodnější použít léčiva, která selektivně inhibují izoformu G1 (např. rivastigmin) [127, 154]. Jelikož je správná funkce acetylcholinergního systému zasažena již v časných fázích AD, využívá se léčby inhibitory AChE či BuChE zvláště v lehkých až středně těžkých stádiích AD [127, 146]. První léčivá látka této skupiny (galanthamin) inhibuje AChE a navíc moduluje i některé formy nikotinových receptorů [146, 154]. Druhým používaným léčivem je donepezil, jež inhibuje pouze AChE a poslední používanou látkou inhibující AChE i BuChE je rivastigmin [127, 146].

Druhou používanou skupinou léčiv jsou antagonisté NMDA (N-methyl-D-aspartátových) glutamátergních ionotropních receptorů. Postižením glutamátergního systému hlavně v těžších stádiích AD dochází k nadměrnému vyplavování tzv. neuromediátorových excitačních AMK (zvláště aspartátu a glutamátu) a zároveň k jejich sníženému vychytávání zejména oblastech mozku nepostradatelných pro správnou funkci paměti. Nadměrné působení excitačních AMK na NMDA receptory, které jsou propojeny s kalciovými kanály, vede k přílišnému vstupu kalciových iontů do neuronů, destabilizaci jejich vnitřního prostředí a následnému zániku těchto buněk apoptózou [146, 151]. Antagonisté NMDA receptorů v terapeutických

dávkách tedy do jisté míry zamezují pokračování této kaskádové reakce [127, 151]. V dnešní době je z této skupiny využíván pouze derivát amantadinu memantin, jež jakožto modulátor glutamátového přenosu v CNS a stimulantem přispívá ke zlepšení krátkodobé paměti i u pokročilejších stádií. Použití memantinu v časných fázích nemoci není vhodné kvůli nedostatečné odpovědi na léčbu, výhodné je ovšem jeho použití v kombinální léčbě s inhibitory AChE [128].

6.3.2 Studie zkoumající inhibiční aktivitu vůči úhoří acetylcholinesterase u alkaloidů z více endemických rodů Jižní Afriky najednou

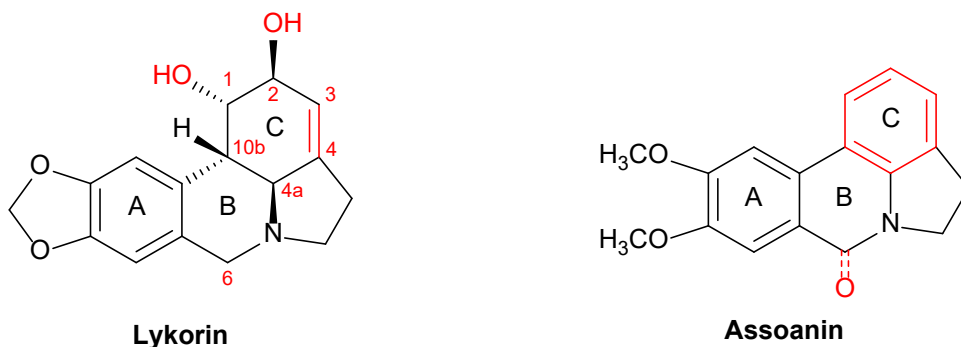
Studie z roku 2011 zkoumala inhibiční aktivitu alkaloidu narcipriminu izolovaného z *C. contractus* N.E.Br. vůči úhoří AChE v porovnání s některými dalšími vybranými AmA (assoaninem, krininem, 1-O-acetyllykorinem a lykorinem) s využitím galanthaminu jakožto standardu. Inhibiční aktivita narcipriminu vůči úhoří AChE byla ve srovnání s galantaminem a dalšími zkoumanými alkaloidy pouze mírná (narciprimin byl přibližně 40x méně účinný než galanthamin; Tab.16) [121].

Tab. 16: Inhibiční aktivita IC₅₀ (μM) zkoumaných AmA proti biotransformaci acetylthiocholinu pomocí úhoří AChE [121]	
Narciprimin	78,9 ± 1,96
Lykorin	213 ± 1
Krinin	461 ± 14
1-O-Acetyllykorin	0,96 ± 0,04
Assoanine	3,87 ± 0,24
Galanthamin st	1,9 ± 0,16

Následně byly zjištěné poznatky o struktuře narcipriminu a o inhibiční aktivitě zkoumaných alkaloidů v této studii porovnávány také s dalšími poznatky ze studií provedených dříve. Narciprimin byl první sloučeninou s 6-fenanthridonovým základem, který projevil inhibiční aktivitu vůči AChE. Jeho aktivita se odůvodňuje přítomností aromatického kruhu C, kterým je dána jeho planarita [121]. Strukturně podobné alkaloidy narciklasinového typu (narciklasin s pouze částečně nasyceným kruhem C a pankratistatin obsahují zcela nasycený kruh C) totiž nejsou vůči AChE aktivní [135]. Nesubstituované sloučeniny krininu a lykorinu vykazovaly relativně nízkou inhibiční aktivitu, zatímco monosubstituce na uhlíkovém atomu C1 u 1-O-acetyllykorinu vedla k výraznému nárůstu aktivity (1-O-acetyllykorin byl téměř dvakrát aktivnější než galanthamin) [121]. Tato skutečnost byla potvrzena semisyntetickou přípravou C1 a C2 analogů lykorinu pomocí chemo-regioselektivní silylační strategie. Výrazný nárůst aktivity vůči úhoří AChE byl pozorován zejména u derivátů s objemným lipofilním substituentem navázaným na uhlíkovém atomu C2 a tento účinek byl dále podpořen přítomností acetátu nebo benzoátu na uhlíku C1. Nejvyšší účinnost byla zaznamenána u disubstituovaného

1-O-acetyl-2-O-TBS-lycorinu (Tab 17). Předpokládá se, že přítomnost objemného lipofilního substituentu na C2 je důležitá pro vazbu v aktivním místě úhoří AChE, stejně tak jako přítomnost polární skupiny schopné přijímat vodíkové vazby na uhlíku C1 [135]. Během zkoumání struktur 1-O-acetyllycorinu a galanthaminu v programu Spartan Pro 1.0 se navíc ukázalo, že hydroxy-skupina a dusíkový atom galanthaminu se překrývá s 1-O-acetylovou skupinou a dusíkovým atomem 1-O-acetyllycorinu. Patrný byl také částečný překryv methylenedioxy-skupiny zkoumaných alkaloidů lykorinového typu s methoxy-skupinou galanthaminu, avšak žádná část sloučenin lykorinového typu se nepřekrývala s dvojnou vazbou cyklohexenového kruhu galanthaminu. Tyto získané poznatky naznačují, že mechanismus vazby galanthaminu na úhoří AChE se může lišit od mechanismu vazby 1-O-acetyllycorinu [155]. Dále byla také porovnávána rozdílná inhibiční aktivita u strukturně podobných alkaloidů lykorinu, assoaninu a oxoassoaninu. Výrazná inhibiční aktivita assoaninu se na rozdíl od velmi nízké aktivity lykorinu opět vysvětluje přítomností planárního aromatického kruhu C (Obr. 107). Mírně snížená inhibiční aktivita oxoassoaninu ($IC_{50} = 47,21 \pm 1,13$) oproti assoaninu je zapříčiněna jeho 6-oxo-substitucí (Obr. 107) [156].

Tab. 17: Inhibiční aktivita K_i (μM) synteticky připravených derivátů lykorinu proti biotransformaci acetylthiocholinu pomocí úhoří AChE [135]	
1-Acetoxylycorin	$0,43 \pm 0,02$
2-TBS-lycorin	$0,86 \pm 0,03$
1-Acetoxy-2-TBS-lycorin	$0,34 \pm 0,08$
1-Benzoyllycorin	$0,54 \pm 0,03$
1-Benzoyl-2-acetyllycorin	$0,97 \pm 0,10$
1-Benzoyl-2-TBS-lycorin	$0,39 \pm 0,03$
Galanthamin st	$0,30 \pm 0,06$



Obr. 107: Strukturní znaky alkaloidů lykorinu a assoaninu, jež ovlivňují míru jejich inhibiční aktivity vůči úhoří AChE [121, 135]

Ve studii z roku 2020 se stanovovala procentuální inhibice AChE z elektrického úhoře surovými methanolvými extrakty 28 druhů čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. z JA, včetně *A. belladonna* L., *B. disticha* Herb., *B. haemanthoides* F.M.Leight., *B. grandiflora* Lindl, *B. herrei* F.M.Leight. ex W.F.Barker, *B. marginata* (Jacq.) W.T.Aiton a *B. orientalis* Ait. ex Eckl., a to pomocí HPTLC bio-autografie s využitím 1-naftylacetátu jako barvicího média a galanthaminu (1,0 mg/ml) jako standardu, a pomocí kolorimetrického mikrodestičkového testu založeného na Ellmanově metodě. Extrakt z *A. belladonna* L. se jevil v inhibici AChE jako nejaktivnější (85,5 %) [95]. Další významné inhibiční hodnoty se objevily i u extraktu *B. marginata* (Jacq.) W.T.Aiton (70,2 %), a pak zejména u extraktů dalších rostlin rodu *Nerine* Herb. – př. *Nerine laticoma* subsp. *huttoniae* (Schönland) Traub (81,2 %), *Nerine undulata* Herb. (70,1 %), *Haemanthus* L. – př. *Haemanthus albiflos* Jacq. (70,1 %), *Haemanthus montanus* Baker. (70,2 %), *Scadoxus* Raf. – př. *Scadoxus puniceus* (L.) Friis & Nordal (61,6 %) či *Crossyne* Salisb. – př. *Crossyne guttata* (L.) D.Müll. -Doblies & U.Müll. -Doblies (64,5 %) [95, 157-161]. Šest nejaktivnějších z výše uvedených extraktů bylo následně porovnáno s inhibiční aktivitou galanthaminu ($IC_{50} = 1,78 \pm 0,75 \mu\text{g/ml}$). Nejúčinnějších, ač vůči galanthaminu stále méně výrazných, hodnot dosáhl extrakt *A. belladonna* L. ($IC_{50} = 14,3 \pm 2,6 \mu\text{g/ml}$). U extraktů *N. laticoma* subsp. *huttoniae* (Schönland) Traub a *N. undulata* Herb. byla odhalena mírná aktivita s podobnými hodnotami ($IC_{50} = 45,3 \pm 0,4$ a $52,8 \pm 0,5 \mu\text{g/ml}$). Extrakty *B. marginata* (Jacq.) W.T.Aiton, *H. albiflos* Jacq. a *H. montanus* Baker vykázaly vždy pouze nízkou až zanedbatelnou aktivitu ($IC_{50} = >100 \mu\text{g/ml}$). Z nejúčinnějšího extraktu *A. belladonna* L. byly posléze izolovány čtyři alkaloidy (belladin, buphanidrin, 1-O-acetylkaranin a undulatin), jež se následně zvlášť testovaly na inhibiční aktivitu vůči AChE elektrického úhoře vzhledem ke galanthaminu (Tab. 18). Nejméně aktivní z těchto čtyř sloučenin byl alkaloid belladin, zato 1-O-acetylkaranin byl nejen nejaktivnější sloučeninou, ale také navíc prokázal nejvyšší příznivou vazebnou afinitu k AChE elektrického úhoře v jejím aktivním místě [95]. Tato studie své získané výsledky dále pro srovnání porovnávala i s výsledky jiných studií. Příkladem byla studie z roku 2015, v níž byla také zkoumána aktivita vůči AChE z elektrického úhoře u alkaloidu

undulatinu pomocí Ellmanovy spektrofotometrické metody, jejíž hodnota byla ovšem výrazně nižší ($IC_{50} = 7,4 \pm 0,03 \mu M$), než ta získaná v této studii ($IC_{50} = 33,9 \pm 0,4 \mu M$) [95, 162]. Aktivita standardu galanthaminu naměřená v této studii ($IC_{50} = 6,19 \pm 2,63 \mu M$) byla také odlišná od té naměřené ve studii z roku 2015 ($IC_{50} = 4,0 \pm 0,13 \mu M$), kde byl ovšem jako standard použit galanthamin hydrochlorid, nebo např. od té naměřené ve studii z roku 2011 zkoumající aktivitu u rostlin kmene *Haemanthae* ($IC_{50} = 2,9 \pm 0,29 \mu M$), kde však byl jako standardní sloučenina použit galanthamin hydrobromid [95, 162, 163].

Tab. 18: Naměřená hodnoty inhibiční aktivity vůči úhoří AChE a vypočtené vazebné afinity čtyř alkaloidů izolovaných z <i>A. belladonna</i> L. [95]		
	IC_{50} (μM)	Vypočtená vazebná afinita (kcal/mol)
Belladin	$135,0 \pm 4$	-8,10
Buphanidrin	$52,8 \pm 0,4$	-10,20
1-O-Acetylkararin	$11,7 \pm 0,7$	-10,40
Unulatin	$33,9 \pm 0,4$	-9,60
Galanthamin st	$6,19 \pm 2,60$	-10,60

6.3.3 Rod *Amaryllis* L. a rod *Crinum* L.

V roce 2021 byla testována inhibiční aktivita vůči AChE a BuChE u extraktů z listů a cibulí pěti druhů čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. včetně *A. belladonna* L. a *C. moorei* Hook.f. za využití galanthaminu jakožto standardu [91]. Významné hodnoty byly naměřeny zejména u extraktů získaných z listů asijského druhu *Crinum* × *amabile* Donn ex Ker Gawl. (AChE $IC_{50} = 0,88 \mu g/ml$, BuChE $IC_{50} = 4,46 \mu g/ml$) a jihoamerického druhu *Crinum erubescens* L.f. (AChE $IC_{50} = 1,75 \mu g/ml$, BuChE $IC_{50} = 8,72 \mu g/ml$) [73, 91]. Extrakty z listů a cibulí *A. belladonna* L., *C. moorei* Hook.f. a druhu pocházejícího ze Střední Ameriky (*Zephyrathes carinata* Herb.) dosahovaly méně významných hodnot, jak pro AChE i pro BuChE [91, 164]. Dále proběhla izolace alkaloidů z extraktů všech pěti zkoumaných rostlin, přičemž z extraktů *A. belladonna* i *C. moorei* byl mimo jiné izolován také lykorin a z extraktů *A. belladonna* navíc i buphanisin. Následně byly ze tří nejhojněji zastoupených strukturních typů AmA z extraktu listů *C. × amabile* Donn ex Ker Gawl vybrány tři alkaloidy (buphanisin za krininový typ, lykorin za lykorinový typ a sanguinin za galanthaminový typ), které byly dále podrobeny molekulárnímu dokování *in silico* s lidskou AChE (hAChE) a lidskou BuChE (hBuChE). Ukázalo se, že nejvyšší vazebnou energii v aktivním místě hBuChE (struktura 1P0I) vykazoval buphanisin v porovnání s galanthaminem jakožto standardem (Tab. 19). V aktivních místech hAChE (struktury 4EY7 a 5HF5) nadále vykazoval nejvyšší vazebnou energii galanthamin (Tab. 19). [91].

Tab. 19: Výsledné hodnoty vazebných energií zkoumaných AmA v aktivních místech hAChE a hBuChE získané v rámci molekulárního dokování [91]			
	4EY7	5HF5	1P0I
Buphanisin	-9,50	-8,38	-8,11
Lykorin	-8,89	-8,38	-7,74
Sanguinin	-9,00	-8,03	-7,10
Galanthamin st	-9,92	-8,97	-7,40

6.3.4 Rod *Ammocharis* Herb.

V roce 2013 byla publikována studie, jež zkoumala inhibiční aktivitu surového ethanolového extraktu z cibulí *A. coranica* Herb. a jeho butanolové a ethylacetátové frakce vůči AChE v porovnání s fysostigminem jakožto referenční sloučeninou. Z výsledků uvedených v (Tab. 20) je patrné, že butanolová frakce se ukázala být vysoce účinná vůči AChE, a to dokonce více než použitý standard. Naopak frakce ethylacetátová vyšla přibližně třikrát méně aktivní v porovnání s ethanolovým surovým extraktem *A. coranica* Herb. Navzdory těmto výrazným odlišnostem v AChE inhibici, byly následně obě zmiňované frakce využity k izolaci samostatných sloučenin s AChE inhibiční aktivitou. Avšak jako jedinou izolovanou aktivní sloučeninou z butanolové frakce byl alkaloid lykorin [165].

Tab. 20: AChE inhibiční aktivita surového extraktu, butanolové a ethylacetátové frakce, a lykorinu izolovaných z cibulí <i>A.coranica</i> Herb. [165]	
	IC ₅₀ (µg/ml)
Ethanolový surový extrakt	14,3 ± 0,50
Butanolová frakce	0,05 ± 0,02
Ethylacetátová frakce	43,1 ± 1,22
Lykorin	29,4 ± 3,15
Fyzostigmin st	1,51

6.4 Další biologická aktivita alkaloidů vybraných endemických rodů Jižní Afriky

6.4.1 Antibakteriální a antifungální aktivita

6.4.1.1 Rod *Amaryllis* L.

Studie z roku 2004 byla zaměřena na zkoumání antibakteriální aktivity vůči bakteriím *Staphylococcus aureus* (G+), *Escherichia coli* (G-) a *Pseudomonas aeruginosa* (G-), a antifungální aktivity vůči kvasince *Candida albicans* u šesti alkaloidů izolovaných z cibule *A. belladonna* L. za použití diskového difusního testu. Pro testování byly odváženy 3 mg každého alkaloidu

a rozpuštěny v 1 ml DMF. Jako antifungální kontrola byl použit klotrimazol (10 mg/ml) a jako antibakteriální kontrola ampicilin (10 µg/disk). Všechny zkoumané alkaloidy (amarbellisin, hippeastrin, lykorin, pankracin, vittatin a 11-hydroxyvittatin) vykazovaly antifungální aktivitu vůči *C. albicans*, z čehož nejvyšší hodnoty inhibičních zón byly zaznamenány u lykorinu, hippeastrinu a amarbellisinu (Tab. 21). Dále byla u některých zkoumaných alkaloidů potvrzena i antibakteriální aktivita vůči *E. coli* (amarbellisin, vittatin), *P. aeruginosa* (pankracin) a *S. aureus* (amarbellisin, pankracin, vittatin, 11-hydroxyvittatin). Žádná antibakteriální aktivita nebyla sledována u hippeastrinu a lykorinu. [92].

Tab. 21: Antibakteriální a antifungální aktivita šesti zkoumaných alkaloidů izolovaných z <i>A. belladonna</i> L. [92]				
	Inhibiční zóna (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
Amarbellisin	22		22	24
Hippeastrin				25
Lykorin				40
Pankracin		16	22	15
11-Hydroxyvittatin			17	20
Vittatin	22		19	17

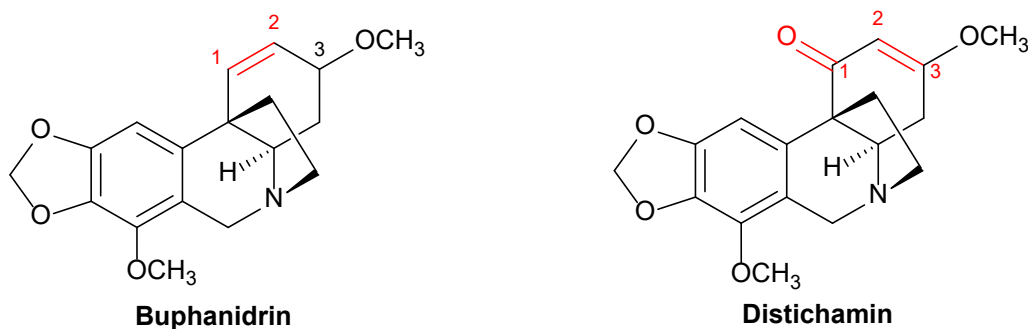
6.4.1.2 Rod *Boophone* Herb.

Roku 2012 byla zkoumána antibakteriální aktivita vůči bakteriím *Bacillus subtilis* (G+), *E. coli* (G-), *Klebsiella pneumoniae* (G-) a *S. aureus* (G+) také u dvou alkaloidů izolovaných ze surového ethanolického extraktu z cibulí *B. disticha* Herb. (buphanidrin a distichamin). Pomocí diluční metody byly stanoveny jednotlivé MIC (µg/ml) daných látek s využitím neomycinu jako standardu (Tab. 22) [166].

Tab. 22: Antibakteriální aktivita uvedená jako MIC (µg/ml) dvou zkoumaných alkaloidů izolovaných z <i>B. disticha</i> Herb. [166]				
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>
Surový EtOH extrakt	250	130	130	130
Buphanidrin	130	63	63	63
Distichamin	130	63	63	63
Neomycin st	0,0016	0,0008	0,0016	0,0008

Surový ethanolický extrakt vykazoval aktivitu vůči všem čtyřem bakteriím, avšak nejvíce proti *E. coli*, *K. pneumoniae* a *S. aureus*. Samotné čisté alkaloidy buphanidrin a distichamin přitom vždy byly ještě přibližně dvakrát aktivnější než tento surový extrakt. Vzhledem

k tomu, že se výsledné hodnoty MIC pro *B. subtilis* pokaždé lišily cca dvakrát oproti výsledným hodnotám získaným u ostatních bakterií naznačuje, že jak samotné alkaloidy, tak surový ethanolický extrakt byly selektivní ve své interakci s bakteriálními kmeny. Obdobná antibakteriální aktivita buphanidrinu a distichaminu by mohla být zapříčiněna jejich blízkou strukturální podobností, jelikož jediným zřejmým rozdílem je oxidace na uhlíkovém atomu C1 u distichaminu a odlišná poloha dvojně vazby (mezi C1 a C2 u buphanidrinu a C2 a C3 u distichaminu; Obr. 108) [166].



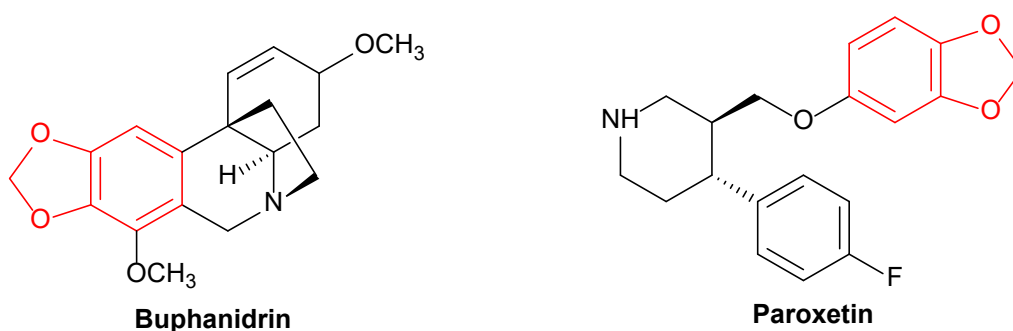
Obr. 108: Drobné strukturální odlišnosti alkaloidů buphanidrinu a distichaminu, které zřejmě nemají významný vliv na jejich antibakteriální aktivitu

6.4.2 Axiolytická a antidepresivní aktivita

6.4.2.1 Rod *Boophone* Herb.

Studie z roku 2004 se zabývala zkoumáním afinity vodních a 70 % ethanolových extraktů 34 jihoafrických rostlin tradičně používaných při úzkosti a depresi k transportnímu proteinu pro zpětné vychytávání serotoninu (SERT) v mozku potkana. Mezi těmito rostlinami byly zahrnuty i *B. grandiflora* Lindl (vodní extrakt z listů, vodní a ethanolové roztoky z cibule) a *B. disticha* Herb. (vodní a ethanolické roztoky z listů, cibulí i kořenů). V kompetitivním vazebném testu s ³H-značeným citalopramem byly za extrakty s vysokou afinitou k SERT považovány ty, které vykazovaly koncentračně závislou inhibici s méně než 50 % vazbou ³H-značeného citalopramu při třech nejvyšších koncentracích (5, 1 a 0,1 mg/ml). Tyto podmínky splňovaly právě vodní roztok z cibule a vodní i ethanolický roztok z listů *B. disticha* Herb. [167]. O rok později na tuto studii navázala další studie, která se snažila prokázat afinitu k SERT a také k 5HT_{1A} receptoru u dvou alkaloidů (buphanaminu a buphanidrinu) izolovaných z listů *B. disticha* Herb. Tato studie vycházela z předpokladu, že terapeutický účinek antidepresivních látek inhibujících jak účinek 5HT_{1A} autoreceptorů, tak zpětné vychytávání serotoninu, by mohl nastoupit dříve než za 2-4 týdny (jako je tomu např. u SSRI). Buphanamin (IC₅₀ = 2975 μM) i buphanidrin (IC₅₀ = 1203 μM) však vykazovaly pouze slabou afinitu k 5HT_{1A}, čímž se u nich tento duální účinek neprokázal. Afinita k SERT buphanaminu (IC₅₀ = 1799 μM) i buphanidrinu (IC₅₀ = 274 μM) se prokázala, ale oproti citalopramu (IC₅₀ = 1,3 nM) byla také nižší [101].

Jelikož se afinita k SERT u buphanaminu a buphanidrinu vysvětluje strukturně společným motivem benzo-1,3-dioxolu, který lze nalézt i ve struktuře klinicky používaného paroxetinu (SSRI), byla v roce 2009 publikována další studie, zkoumající aktivitu k vazbě SERT i u dalších alkaloidů izolovaných z cibule *B. disticha* Herb. (kromě opět izolovaného buphanaminu a buphanidrinu, také buphanisin, distichamin a krinin) [101, 102]. Zatímco krinin vykazoval jen velmi slabou aktivitu, u ostatních alkaloidů byla naměřena aktivita vyšší: neaktivnější buphanamin ($IC_{50} = 55 \pm 4 \mu M$), dále buphanidrin ($IC_{50} = 63 \pm 9 \mu M$), distichamin ($IC_{50} = 65 \pm 7 \mu M$) a na konec buphanisin ($IC_{50} = 199 \pm 25 \mu M$) [102].

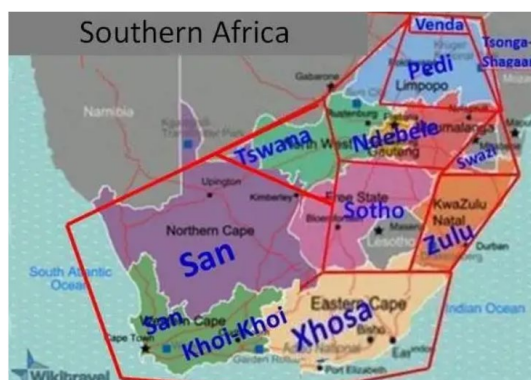


Obr. 109: Příklad strukturního znaku benzo-1,3-dioxolu u alkaloidu buphanidrinu a SSRI paroxetinu pravděpodobně vysvětlující afinitu k SERT

6.5 Využití vybraných endemických rostlin čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. v tradiční medicíně

V následujících odstavcích je stručně popsáno využití některých vybraných endemických rostlin JA v tradiční medicíně.

A. belladonna L. byla po staletí tradičně využívána národy Sotho, Xhosa a Zulu JAR (Obr. 110) k léčbě otoků, jež lze zřejmě považovat za synonymum pro rakovinu [19].



Obr. 110: Mapa současných provincií JAR a orientačně vyznačených původních teritorií ze 17. století [168]

Výtažky z *A. coranica* Herb. používají lidé národa Zulu k léčbě abscesů, vředů či i duševních chorob v rámci čarodějnictví [44, 165].

Název *Boophone* je odvozen z řeckého *bous* = vůl a *phone* = smrt, což poukazuje na vysokou jedovatost cibulí *B. disticha* Herb. pro ovce a skot [53]. Toho v Africe využívají některé domorodé kmeny (San a Khoi-San) k přípravě jedovatých šípů [53, 54, 169]. Další známý název této rostliny, *sore-eye flower*, zase odkazuje na skutečnost, že vystavením se kontaktu s kvetoucími rostlinami v uzavřeném prostoru může vést k bolesti očí, či bolestem hlavy [53]. Odvary z *B. disticha* Herb. jsou dodnes používány tradičními léčiteli k léčbě bolesti svalů, k pročištění gastrointestinálního a urinálního traktu a k léčbě tuberkulózy. Extrakty z *B. disticha* Herb. jsou tradičně využívány k léčbě malárie, rakoviny a stářím navozené demence [169]. Zejména cibule jsou dále často používány k léčbě astmatu, k navození halucinací, sedace a lze také je využít k urychlení hojení a ke zmírnění bolesti ran (vnější obal cibule na vředy a abscesy a čerstvé listy k zastavení krvácení z ran) [53, 169]. Narozdíl od rozličných možností využití *B. disticha* Herb. se *B. haemanthoides* F.M.Leight. tradičně využívá pouze k léčení respiračních onemocnění [169].

Odvary a nálevy z cibulí rostlin rodu *Brunsvigia* Heist. v JA jsou tradičně využívány k léčebným účelům a místními věštcí ke zvýšení přesnosti v hodů kostek. Cibule bohaté na alkaloidy však mohou být extrémně toxické [65].

Rostliny rodu *Crinum* L. byly používány k tradiční léčbě různých nemocí po celém světě [12]. *C. moorei* Hook.f. je tradičními léčiteli používán při problémech s pamětí, při infekcích močových cest, léčbě vředů, akné, a k léčbě onemocnění skotu [79].

Některé druhy rodu *Cyrtanthus* Aiton jsou v JA využívány k léčebným účelům a některým z nich jsou přisuzovány i magické schopnosti. Z cibulí druhu *C. obliquus* (L.f.) L.f. se připravují odvary k léčbě chronického kašle. Suché slupky tohoto druhu se melou na prášek, který se v případě potřeby šňupe, aby pomohl při bolestech hlavy. Ten samý prášek se také používá k podpoře hojení řezných ran. Druh *C. sanguinea* Walp se používá jako emetikum, anebo jako přísada do koupelí (zejména listy). Cibule druhu *C. breviflorus* Harv. se používají jako antiparazitikum proti hlísticím a tasemnicím, a zároveň v magii i jako kouzlo lásky [83, 119]. Cibule druhu *C. stenanthus* Baker (Obr. 85) jsou údajně jedlé a využívá se jejich přičítané magické schopnosti ochrany před bleskem [83].

7 ZÁVĚR

Endemické rody rostlin JA čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. jsou bohaté na obsah AmA, které jsou významné z hlediska výzkumu a potencionálního využití ve farmacii.

Prvním z cílů této diplomové práce bylo zpracovat endemické rody *Amaryllis* L., *Ammodendron* Herb., *Boophone* Herb., *Brunsvingia* Heist., *Crinum* L. a *Cyrtanthus* Aiton. Kromě rodu *Crinum* L., jehož druhoví zástupci se přirozeně nacházejí i v Americe, jižní Asii a Austrálii, se všechny ostatní zmiňované rody vyskytují pouze na africkém kontinentu.

Dalším cílem této práce bylo vytvořit přehled alkaloidů izolovaných z těchto endemických rodů. U všech doposud fytochemicky prozkoumaných druhů těchto rodů byly hojně zastoupeny alkaloidy haemanthaminového a lykorinového strukturního typu. S výjimkou rodu *Cyrtanthus* Aiton byly dále všechny ostatní vybrané endemické rody bohaté i na obsah alkaloidů krininového strukturního typu. Minoritně byly zastoupeny alkaloidy norbeladinového, homolykorinového, galantindolového, narciklasinového, pretazetinového, montaninového, isminového a galathaminového strukturního typu a alkaloidy ze skupiny ostatních strukturních typů.

Posledním dílčím cílem této práce bylo shrnout současné poznatky o biologické aktivitě alkaloidů izolovaných z uvedených endemických rodů. Řada těchto alkaloidů byla izolována i z dalších druhů čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. Jejich biologická aktivita byla proto zkoumána také v rámci studií odlišných rostlin. Alkaloidy izolované z endemických rodů JA uvedených v této práci vykazovaly zejména výrazné antiproliferativní a antiprotozoální účinky a významnou inhibiční aktivitu vůči AChE a BuChE. U některých alkaloidů byla zaznamenána i antibakteriální, antifungální, anxiolytická či antidepresivní aktivita.

Nejvýraznější antineoplastické účinky byly objeveny u alkaloidů lykorinového (zvláště u lykorinu a 1-O-acetylnorpluviinu) a haemanthaminového strukturního typu (např. u krinaminu a haemanthaminu). Významná antineoplastická aktivita byla zaznamenána také u alkaloidu krininového strukturního typu distichaminu, který byl izolován pouze z rostlin rodu *Boophone* Herb. a druhu *A. belladonna* L. Mírnou antineoplastickou aktivitu vykazoval také alkaloid narciklasinového typu narciprimin izolovaný z *C. contractus* N.E.Br., jehož chemická struktura přispěla k pochopení vztahů mezi strukturou a účinkem u některých dalších antineoplasticky působících alkaloidů či u alkaloidů vykazujících inhibiční aktivitu vůči AChE a BuChE.

Antiprotozoální aktivitu vykazovaly zejména alkaloidy haemanthaminového a lykorinového strukturního typu. Nejvýznamnější antimalarické účinky byly zaznamenány u alkaloidů 1-O-acetylkaraninu (lykorinový typ) a ambellinu (haemanthaminový typ). U některých synteticky připravených derivátů ambellinu bylo navíc prokázáno selektivní působení vůči spícím jaterním formám plasmodií.

Nejvýznamnější inhibiční aktivita vůči úhoří AChE byla zaznamenána zejména u alkaloidů lykorinového typu a jejich synteticky připravených derivátů v porovnání s alkaloidem galanthaminem, jenž je v dnešní době využíván k terapii lehčích až středně závažných stádií AD. Výrazné hodnoty vazebné afinity k AChE elektrického úhoře v jejím aktivním místě byly kromě galanthaminu naměřeny také u alkaloidu lykorinového typu 1-O-acetylkaraninu a alkaloidu krininového typu buphanidrinu. V případě vážnějšího zájmu o výše zmíněné látky by ale bylo vzhledem k rozdílnosti enzymů nutné stanovit jejich aktivitu i vůči humánním cholinestrásám. V rámci molekulárního dokování *in silico* vykazoval nejvyšší vazebnou energii v aktivních místech hAChE galanthamin, zatímco v aktivním místě hBuChE projevil nejvyšší vazebnou energii alkaloid krininového typu buphanisin.

V rámci zpracování poznatků o biologické aktivitě některých alkaloidů izolovaných z výše uvedených endemických rodů JA byly v této práci popsány a znázorněny také předpokládané vztahy mezi jejich strukturou a účinkem.

Tato diplomová práce sumarizuje dosavadní poznatky o rostlinách z vybraných rodů čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil., které jsou endemické v JA, a o jejich sekundárních metabolitech ze skupiny alkaloidů. Alkaloidy těchto rostlin jsou pro své dokázané biologické účinky potenciálně významné z hlediska využití v oborech farmacie a medicíny. Budoucí práce by se měly věnovat dalšímu výzkumu kvalitativního i kvantitativního zastoupení alkaloidů v rostlinných druzích těchto endemických rodů, hlubšímu zkoumání vlivu struktury izolovaných biologicky aktivních alkaloidů na jejich účinek a pochopení mechanismů účinku vzhledem k významnosti těchto látek.

8 ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakognozie a farmaceutické botaniky

Řešitel: Hana Komrzýová

Školitel: PharmDr. Kateřina Hradiská Breiterová, Ph.D.

Název diplomové práce: Alkaloidy čeledi Amaryllidaceae: rody endemické v Jižní Africe

2024, 109 s.

Cílem této diplomové práce je vytvořit přehled alkaloidů doposud studovaných v rodech čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil., které jsou endemické v Jižní Africe. Jedná se o rody *Amaryllis* L., *Ammocharis* Herb., *Boophone* Herb., *Brunsvingia* Heist., *Crinum* L. a *Cyrtanthus* Aiton. Byla zpracována charakteristika těchto rodů z pohledu anatomie, morfologie a výskytu, zhotoven souhrn 97 alkaloidů izolovaných z 22 studovaných druhů těchto rodů, a vytvořen přehled o jejich biologické aktivitě a případném vlivu jejich struktury na danou biologickou aktivitu. Rostliny těchto rodů jsou bohaté zejména na obsah alkaloidů haemanthaminového, krinino-ového a lykorinového strukturního typu. U izolovaných alkaloidů byla prokázána antineoplastická, antiprotozoální aktivita, inhibiční aktivita vůči acetylcholinesterase a butyrylcholinesterase i další biologické účinky. Tato práce obsahuje také botanickou charakteristiku čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil., zjednodušený popis biosyntézy amaryllkovitých alkaloidů a stručný popis geografických oblastí a hortikulturních zón Jihoafrické republiky, na jejímž území se vyskytuje většina druhů uvedených endemických rodů. Dále je v práci uvedena také charakteristika tří skupin onemocnění, vůči nimž byla biologická aktivita izolovaných alkaloidů zmíněných endemických rodů nejvíce zkoumána a využití vybraných endemických rostlin čeledi Amaryllidaceae J.St.-Hil. v tradiční medicíně.

Klíčová slova: Amaryllidaceae, endemita, Jižní Afrika, alkaloidy, antiproliferativní aktivita, lykorin, distichamin, narciprimin, ambellin, galanthamin

9 ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany

Author: Hana Komrzýová

Supervisor: PharmDr. Kateřina Hradiská Breiterová, Ph.D.

Title of thesis: Alkaloids of Amaryllidaceae family: endemic genera in South Africa

2024, 109 p.

The aim of this diploma thesis is to create a comprehensive overview of alkaloids studied so far in genera of the Amaryllidaceae J.St.-Hil. family that are endemic to South Africa. These genera include following taxa: *Amaryllis* L., *Ammocharis* Herb., *Boophone* Herb., *Brunsvingia* Heist., *Crinum* L., and *Cyrtanthus* Aiton. A characterization of these genera from the perspective of anatomy, morphology, and occurrence was conducted, a summary of 97 alkaloids isolated from 22 studied species of these genera was gathered, and an overview of their biological activity and the potential influence of their structure on this biological activity was created. Plants of these genera are particularly rich in alkaloids of the haemanthamine, crinine, and lycorine structural types. The isolated alkaloids demonstrated antineoplastic, antiprotozoal activity, inhibitory activity against acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase, and other biological effects. This thesis also includes a botanical characterization of the Amaryllidaceae J.St.-Hil. family, a simplified description of the biosynthesis of Amaryllidaceae alkaloids and a brief description of the geographical regions and horticultural zones of the Republic of South Africa, where most species of the mentioned endemic genera occur. Furthermore this thesis includes an characterization of three major groups of diseases against which the biological activity of the isolated alkaloids of the mentioned endemic genera was studied the most, and the use of selected endemic plants of the Amaryllidaceae J.St.-Hil. family in traditional medicine.

Keywords: Amaryllidaceae, endemite, South Africa, alkaloids, antiproliferative activity, lycorine, distichamine, narciprimine, ambelline, galanthamine

10 LITERATURA

1. Bauer, B., *Historical review of medicinal plants' usage*. Pharmacognosy reviews, 2012. **6**: p. 1-5.
2. Michaleas, S.N., et al., *Theophrastus Bombastus Von Hohenheim (Paracelsus) (1493–1541): The eminent physician and pioneer of toxicology*. Toxicology Reports, 2021. **8**: p. 411-414.
3. Dey, P., et al., *Chapter 15 - Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids)*, in *Recent Advances in Natural Products Analysis*, A. Sanches Silva, et al., Editors. 2020, Elsevier. p. 505-567.
4. Teoh, E., *Secondary Metabolites of Plants*. 2016. p. 59-73.
5. Nair, J.J. and J. van Staden, *Pharmacological and toxicological insights to the South African Amaryllidaceae*. Food and Chemical Toxicology, 2013. **62**: p. 262-275.
6. WFO. *Amaryllidaceae J.St.-Hil.* WFO Plant List, Snapshots of the taxonomy 2024 [cited 2024 28.7.]; Available from: https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-7000000018-2024-06?page=1&hide_syns=true.
7. Dalecka, M., et al., *Amaryllidaceae family alkaloids as potential drugs for cancer treatment*. Chemicke Listy, 2013. **107**: p. 701-708.
8. Berkov, S., et al., *Chapter Two - Chemodiversity, chemotaxonomy and chemoecology of Amaryllidaceae alkaloids*, in *The Alkaloids: Chemistry and Biology*. 2020, Academic Press. p. 113-185.
9. Nair, J.J. and J. van Staden, *Chemical and biological studies of the South African Amaryllidaceae genera Crinum, Ammocharis, Amaryllis, Cyrtanthus and Brunsvigia*. South African Journal of Botany, 2021. **142**: p. 467-476.
10. Stevens, P.F. *Angiosperm Phylogeny Website, Version 14*. 2017 14.10.2023 [cited 2023 17.9.]; Available from: <https://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
11. WFO. *Amaryllidaceae J.St.-Hil.* WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2023 3.12.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-7000000018>.
12. Archer H., R. *Crinum L.* 2004 [cited 2024 10.3.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/crinum>.
13. Kebert, T. *Květní diagramy a vzorce*. [cited 2023 17.9.]; Available from: www.kvetnidiagram.8u.cz/odiagramech.php.
14. Jahodář, L., *Farmakobotanika*. 3. vydání ed. 2011, Praha: Karolinum. 280: p. 181.
15. Eckel, P.M. *A Gramatical Dictionary of Botanical Latin*. 2010-2023 [cited 2024 16.8.]; Available from: <https://www.mobot.org/mobot/latindict/keyDetail.aspx?keyWord=corona>.
16. Zicha, O. *family Amaryllidaceae Jaume St.-Hil.* Taxon Profile 2003 20.2. 2021 [cited 2023 14.9.]; Available from: <https://www.biolib.cz/en/taxon/id3379/>.
17. Chase, M.W., et al., *An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV*. Botanical Journal of the Linnean Society, 2016. **181**: p. 1-20.
18. Adams, T. *Amaryllis Belladonna L.* 2001 [cited 2023 12.9.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/amaryllis-belladonna>.
19. Tallini, L.R., et al. *Alkaloid Constituents of the Amaryllidaceae Plant Amaryllis belladonna L.* Molecules, 2017. **22**, DOI: 10.3390/molecules22091437.

20. Bastida, J., et al., *Chemical and biological aspects of Amaryllidaceae alkaloids*, in *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences*. 2011, Transworld Research Network: ResearchGate. p. 65-100.
21. SANBI. *Vegetation of South Africa*. Vegetation of SA [cited 2024 26.7.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/vegetation>.
22. Thompson, L.M., et al. *South Africa, Government and society*. 2024 26.7.2024 [cited 2024 25.7.]; Available from: <https://www.britannica.com/place/South-Africa/Local-government>.
23. encyklopedie, W.O. *Jihoafriická republika*. 2024 13.7.2024 [cited 2023 26.11.]; Available from: https://cs.m.wikipedia.org/wiki/Jihoafriická_republika.
24. Cooks, J., G.H.T. Kimble, and C.E. Ferreira. *Veld*. 2014 [cited 2023 21.11.]; Available from: <https://www.britannica.com/science/veld>.
25. Britannica, T.E.o.E. *Great Karoo*. 2024 [cited 2024 27.7.]; Available from: <https://www.britannica.com/place/Great-Karoo>.
26. Britannica, T.E.o.E. *Namaqualand*. 2023 [cited 2024 27.7.]; Available from: <https://www.britannica.com/place>Namaqualand>.
27. SANBI. *Fynbos Biome*. Vegetation of SA [cited 2024 26.7.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/vegetation/fynbos-biome>.
28. SANBI. *Grassland biome*. Vegetation of SA [cited 2024 27.7.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/vegetation/grassland-biome>.
29. Lubbe, F., J. Klimešová, and H. Henry, *Winter belowground: Changing winters and the perennating organs of herbaceous plants*. *Functional Ecology*, 2021. **35**.
30. SANBI. *Albany Thicket Biome*. Vegetation of SA [cited 2024 27.7.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/vegetation/albany-thicket-biome>.
31. SANBI. *Horticultural Zones*. [cited 2024 26.7.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/horticultural-zones>.
32. Royal Botanic Gardens, K. *Amaryllis L.* Plants of the World Online 2024 [cited 2024 6.3.2024]; Available from: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:331133-2>.
33. WFO. *Amaryllis L.* WFO Plant list, Snapshots of the taxonomy 2023 [cited 2024 6.3.]; Available from: https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000001476-2023-12?page=1&hide_syns=true.
34. WFO. *Amaryllis L.* WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 5.3.]; Available from: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000001476>.
35. WFO. *Amaryllis belladonna L.* . WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2023 29.11.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000759455>.
36. Council, A. *Amaryllis belladonna*, *Auckland Botanic Gardens*. 2023 [cited 2023 12.9.]; Available from: <https://www.aucklandbotanicgardens.co.nz/plants-for-auckland/plants/amaryllis-belladonna/>.
37. Snijman, D.A. and J.E. Victor. *Amaryllis belladonna L.* National Assessment: Red List of South African Plants 2004 1/2020 [cited 2023 13.9.]; Available from: redlist.sanbi.org/species.php?species=2082-1.
38. Ensinger, F. *Amaryllis belladonna*. [cited 2023 21.11.]; Available from: <https://plantsam.com/amaryllis-belladonna/>.
39. Society, P.B. *Amaryllis*. 2023 [cited 2023 29.11.]; Available from: <https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/amaryllis>.

40. Snijman, D.A., et al. *Amaryllis paradisicola* Snijman. National Assessment: Red List of South African Plants 2015 [cited 2024 10.3.]; Available from: <http://redlist.sanbi.org/species.php?species=2082-3>.
41. WFO. *Amaryllis paradisicola* Snijman. WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 15.8.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000759755>.
42. WFO. *Ammocharis Herb.* WFO Plant List, Snapshots of the taxonomy 2023 [cited 2024 9.3.]; Available from: https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000001617-2023-12?page=1&hide_syns=true.
43. Royal Botanic Gardens, K. *Ammocharis coranica* (Ker Gawl.) Herb. Plants of the World Online 2024 [cited 2024 11.2.]; Available from: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:63093-1>.
44. Riddles, R. *Ammocharis coranica* (Ker Gawl.) Herb. 2017 [cited 2024 12.2.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/ammocharis-coranica>.
45. WFO. *Ammocharis Herb.* WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 15.3.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000001617>.
46. Duncan, G. *Ammocharis baumii* (Harms) Milne-Redh. & Schweick. 2020 [cited 2024 7.8.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/ammocharis-baumii>.
47. Society, P.B. *Ammocharis longifolia*. 2024 [cited 2024 14.8.]; Available from: https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/Ammocharis_longifolia.
48. Society, P.B. *Ammocharis nerinoides*. 2021 [cited 2024 6.8.]; Available from: https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/Ammocharis_nerinoides.
49. WFO. *Ammocharis coranica* Herb. WFO, The World Flora Online 2024 [cited 2024 11.2.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000759929>.
50. Society, P.B. *Ammocharis coranica*. 2021 3/2021 [cited 2024 17.2.]; Available from: https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/Ammocharis_coranica.
51. WFO. *Boophone Herb.* WFO Plant List, Snapshots of the taxonomy 2024 [cited 2024 11.7.]; Available from: https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000004996-2024-06?page=1&hide_syns=true.
52. WFO. *Boophone Herb.* WFO, The World Flora Online 2024 [cited 2024 10.7.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000004996>.
53. Lithudzha, E. *Boophone disticha* (L.f.) Herb. 2005 [cited 2023 21.11.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/boophone-disticha>.
54. Nursery, T.R.B.G.a. *Plant Highlight: Boophone disticha*. Plant Highlights 2020 [cited 2023 21.11.]; Available from: <https://www.ruthbancroftgarden.org/plants/boophone-disticha/>.
55. WFO. *Boophone disticha* Herb. 2023 [cited 2023 2.12.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000761937>.
56. Royal Botanic Gardens, K. *Boophone disticha* (L.f.) Herb. Plants of the World Online 2024 [cited 2024 17.2.]; Available from: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:60455694-2>.
57. Duncan, G. and C. Rust. *Boophone haemanthoides* F.M. Leight, Kirstenbosch National Botanical Garden. 2011 2018 [cited 2023 26.11.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/boophone-haemanthoides>.
58. Society, P.B. *Boophone*. 2021 [cited 2023 3.12.]; Available from: <https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/Boophone>.

59. Duncan, G. and C. Rust. *Boophone haemanthoides* F.M. Leight. 2018 2018 [cited 2023 26.11.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/boophone-haemanthoides>.
60. WFO. *Boophone haemanthoides* F.M.Leight. WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2023 2.12.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000761941>.
61. Snijman, D.A. and J.E. Victor. *Boophone haemanthoides* F.M.Leight. National Assessment: Red List of South African Plants 2004 1/2020 [cited 2023 28.11.]; Available from: <http://redlist.sanbi.org/species.php?species=2076-5>.
62. WFO. *Boophone haemanthoides* subsp. *ernesti-ruschii* (Dinter & G.M.Schulze) G.D.Duncan & C.C.Tsang. 2023 [cited 2023 28.11.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0001425951>.
63. WFO. *Brunsvigia Heist*. WFO Plant list, Snapshots of the taxonomy 2024 [cited 2024 11.6.]; Available from: https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000005547-2024-06?page=1&hide_syns=true.
64. WFO. *Brunsvigia Heist*. WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 11.6.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000005547>.
65. Snijman, D. *Brunsvigia Heist*. 2005 [cited 2024 11.6.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/brunsvigia>.
66. Snijman, D.A. and D. Raimondo. *Brunsvigia elandsmontana* Snijman. National Assessment: Red List of South African Plants 2022 [cited 2024 9.8.]; Available from: <http://redlist.sanbi.org/species.php?species=2074-19>.
67. Society, P.B. *Brunsvigia Four*. 2021 [cited 2024 4.8.]; Available from: <https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/BrunsvigiaFour>.
68. Snijman, D.A. and J.E. Victor. *Brunsvigia pulchra* (W.F.Baker) D.Müll.-Doblies & U.Müll.-Doblies. National Assessment: Red List of South African Plants 2004 [cited 2024 9.8.]; Available from: <http://redlist.sanbi.org/species.php?species=2074-18>.
69. Snijman, D.A. and J.E. Victor. *Brunsvigia undulata* F.M.Leight. National Assessment: Red List of South African Plants 2004 [cited 2024 9.8.]; Available from: <http://redlist.sanbi.org/species.php?species=2074-16>.
70. Society, P.B. *Brunsvigia Three*. 2021 [cited 2024 4.8.]; Available from: <https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/BrunsvigiaThree>.
71. Society, P.B. *Brunsvigia Two*. 2021 [cited 2024 4.8.]; Available from: <https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/BrunsvigiaTwo>.
72. WFO. *Crinum L*. WFO Plant List, Snapshots of the taxonomy 2023 [cited 2024 10.3.]; Available from: https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000009700-2023-12?page=8&hide_syns=true.
73. WFO. *Crinum L*. WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 10.3.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000009700#children>.
74. Royal Botanic Gardens, K. *Crinum L*. Plants of the World Online 2024 [cited 2024 11.5.]; Available from: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30006609-2>.
75. Society, P.B. *Crinum Species One*. 2024 [cited 2024 9.8.]; Available from: <https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/CrinumSpeciesOne>.
76. Society, P.B. *Crinum Species Two*. 2022 [cited 9.8. 2024]; Available from: <https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/CrinumSpeciesTwo>.
77. Society, P.B. *Crinum Species Three*. 2021 [cited 2024 9.8.]; Available from: <https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/CrinumSpeciesThree>.

78. Society, P.B. *Crinum minimum*. 2021 [cited 2024 9.8.]; Available from: https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/Crinum_minimum.
79. Khanyile, S. *Crinum moorei*. 2004 [cited 2024 9.3.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/crinum-moorei>.
80. Zijl, H.v. *Crinum Species, River Lily (Crinum variabile)*. 2021 [cited 2024 7.8.]; Available from: <https://davesgarden.com/guides/pf/showimage/374807>.
81. WFO. *Cyrtanthus Aiton*. WFO Plant List, Snapshots of the taxonomy 2024 [cited 2024 28.6.]; Available from: https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000010512-2024-06?page=1&hide_syns=true.
82. WFO. *Cyrtanthus sanguinea Walp.* WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 29.6.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000764957>.
83. Duncan, G. *Cyrtanthus*. 2021 [cited 2024 27.6.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/cyrtanthus>.
84. WFO. *Cyrtanthus Aiton*. WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 28.6.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000010512>.
85. Snijman, D.A. and L. von Staden. *Cyrtanthus leptosiphon Snijman*. National Assessment: Red List of South African Plants 2015 20.9.2015 [cited 2024 19.7.]; Available from: <http://redlist.sanbi.org/species.php?species=2088-71>.
86. Snijman, D.A., C. McMaster, and D. Raimondo. *Cyrtanthus guthrieae L.Bolus*. National Assessment: Red List of South African Plants 2011 26.9.2011 [cited 2024 19.7.]; Available from: <http://redlist.sanbi.org/species.php?species=2088-24>.
87. WFO. *Cyrtanthus breviflorus Harv.* WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 19.7.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000764900>.
88. Snijman, D.A. and J.E. Victor. *Cyrtanthus breviflorus Harv.* National Assessment: Red List of South African Plants 2004 30.6.2004 [cited 2024 20.7.]; Available from: <http://redlist.sanbi.org/www57.cpt1.host-h.net/species.php?species=2088-8>.
89. Society, P.B. *Cyrtanthus Species Four*. 2024 6.3.2024 [cited 2024 20.7.]; Available from: <https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/CyrtanthusSpeciesFour>.
90. Zikishe, V. *Cyrtanthus leucanthus Schltr.* 2011 [cited 2024 20.7.]; Available from: <https://pza.sanbi.org/cyrtanthus-leucanthus>.
91. Rojas-Vera, J.d.C., et al., *Alkaloid profile and cholinesterase inhibition activity of five species of Amaryllidaceae family collected from Mérida state-Venezuela*. South African Journal of Botany, 2021. **136**: p. 126-136.
92. Evidente, A., et al., *(-)-Amarbellisine, a lycorine-type alkaloid from Amaryllis belladonna L. growing in Egypt*. Phytochemistry, 2004. **65**: p. 2113-2118.
93. Evidente, A., et al., *Biological Evaluation of Structurally Diverse Amaryllidaceae Alkaloids and their Synthetic Derivatives: Discovery of Novel Leads for Anticancer Drug Design*. Planta Med, 2009. **75**: p. 501-507.
94. Cho, N., et al., *Antiplasmodial alkaloids from bulbs of Amaryllis belladonna Steud.* Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2018. **28**: p. 40-42.
95. Sibanyoni, M.N., et al., *Isolation, in vitro evaluation and molecular docking of acetylcholinesterase inhibitors from South African Amaryllidaceae*. Fitoterapia, 2020. **146**: p. 104650.
96. Koorbanally, N., D.A. Mulholland, and N. Crouch, *Alkaloids and triterpenoids from Ammocharis coranica (Amaryllidaceae)*. Phytochemistry, 2000. **54**: p. 93-97.

97. Raghoo, M., N.R. Crouch, and N.A. Koorbanally, *A novel and unusual tetramethoxylated crinine alkaloid from Ammocharis coranica (Amaryllidaceae)*. South African Journal of Botany, 2021. **137**: p. 451-454.
98. Hauth, H. and D. Stauffacher, *Die Alkaloide von Ammocharis coranica (Ker.-Gawl.) Herb. emend. M.-Redh. 3. Mitteilung über Amaryllidaceen-Alkaloide*. Helvetica Chimica Acta, 1962. **45**: p. 1307-1317.
99. Hauth, H. and D. Stauffacher, *Die Alkaloide von Buphane disticha (L. f.) HERB. 2. Mitteilung über Amaryllidaceen-Alkaloide*. Helvetica Chimica Acta, 1961. **44**: p. 491-502.
100. Adekanmi Adewusi, E., G. Fouche, and V. Steenkamp, *Cytotoxicity and acetylcholinesterase inhibitory activity of an isolated crinine alkaloid from Boophane disticha (Amaryllidaceae)*. Journal of Ethnopharmacology, 2012. **143**: p. 572-578.
101. Sandager, M., et al., *Alkaloids from Boophane disticha with affinity to the serotonin transporter in rat brain*. Journal of Ethnopharmacology, 2005. **98**: p. 367-370.
102. Neergaard, J.S., et al., *Alkaloids from Boophane disticha with affinity to the serotonin transporter*. South African Journal of Botany, 2009. **75**: p. 371-374.
103. Nair, J.J., J.C. Manning, and J. Van Staden, *Distichamine, a chemotaxonomic marker for the genus Boophane Herb. (Amaryllidaceae)*. South African Journal of Botany, 2012. **83**: p. 89-91.
104. Crouch, N.R., et al., *Bulb alkaloids of the reputedly psychoactive Brunsvigia radulosa (Amaryllidaceae)*. South African Journal of Botany, 2002. **68**: p. 86-89.
105. Campbell, W.E., et al., *Bioactive alkaloids from Brunsvigia radulosa*. Phytochemistry, 2000. **53**: p. 587-591.
106. Campbell, W., et al., *Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from Brunsvigia littoralis*. Planta medica, 1998. **64**: p. 91-3.
107. Viladomat, F., et al., *Alkaloids from Brunsvigia orientalis*. Phytochemistry, 1996. **43**: p. 1379-1384.
108. Viladomat, F., et al., *Alkaloids from Brunsvigia josephinæ*. Phytochemistry, 1994. **35**: p. 809-812.
109. Viladomat, F., et al., *Further alkaloids from Brunsvigia josephinae*. Phytochemistry, 1995. **40**: p. 961-965.
110. Masi, M., et al., *Alkaloids isolated from indigenous South African Amaryllidaceae: Crinum buphanoides (Welw. ex Baker), Crinum graminicola (I. Verd.), Cyrtanthus mackenii (Hook. f) and Brunsvigia grandiflora (Lindl)*. South African Journal of Botany, 2018. **118**: p. 188-191.
111. Elgorashi, E.E., et al., *Variation among three Crinum species in alkaloid content*. Biochemical Systematics and Ecology, 2003. **31**: p. 601-615.
112. Elgorashi, E.E., et al., *Organ-to-organ and seasonal variations of alkaloids from Crinum moorei*. South African Journal of Botany, 2002. **68**: p. 111-114.
113. Steyn, K.H., et al., *Alkaloids from the Crinum variabile (Amaryllidaceae)- including a full house of lycorine and its acylated derivatives*. South African Journal of Botany, 2022. **146**: p. 503-508.
114. Bastida, J., et al., *Alkaloids from Crinum kirkii*. Phytochemistry, 1995. **40**: p. 1291-1293.
115. Machocho, A.K., et al., *Augustamine type alkaloids from Crinum kirkii*. Phytochemistry, 2004. **65**: p. 3143-3149.
116. WFO. *Crinum stuhlmannii subsp. delagoense (I.Verd.) Kwembeya & Nordal*. 2023 [cited 2024 5.8.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000808365>.

117. Thi Ngoc Tram, N., et al., *Crinum L. (Amaryllidaceae)*. *Fitoterapia*, 2002. **73**: p. 183-208.
118. Herrera, M.R., et al., *Alkaloids from Cyrtanthus elatus*. *Fitoterapia*, 2001. **72**: p. 444-448.
119. Crouch, N.R., et al., *Lupane triterpenoid and alkaloid isolates from Cyrtanthus breviflorus (Amaryllidaceae)*. *South African Journal of Botany*, 2005. **71**: p. 104-106.
120. Elgorashi, E.E. and J. van Staden, *Alkaloids from Cyrtanthus falcatus*. *South African Journal of Botany*, 2003. **69**: p. 593-594.
121. Nair, J.J., A.O. Aremu, and J. van Staden, *Isolation of narciprimine from Cyrtanthus contractus (Amaryllidaceae) and evaluation of its acetylcholinesterase inhibitory activity*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011. **137**: p. 1102-1106.
122. Brine, N.D., et al., *A dinitrogenous alkaloid from Cyrtanthus obliquus*. *Phytochemistry*, 2002. **61**: p. 443-447.
123. Brown, J., et al., *Updating the Definition of Cancer*. *Molecular cancer research : MCR*, 2023. **21**.
124. Foretová, L., E. Macháčková, and R. Gaillyová, *Hereditární nádorová onemocnění v klinické praxi*. 1. vydání ed. 2022, Praha: Grada Publishing. 500: p. 21-24, 27, 53, 55-57.
125. (IARC), I.A.f.R.o.C. *Global cancer burden growing, amidst mounting need for services*. 2024 [cited 2024 25.7.]; Available from: <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>.
126. Dienstbier, Z. and E. Skala, *Nádorová diagnostika pro lékaře v praxi*. 1. vydání ed. 1995, Praha: Grada Publishing. 184: p. 25-29, 32, 34-36, 38.
127. Švihovec, J., et al., *Farmakologie*. 1. vydání ed. 2018, Praha: Grada Publishing. 962: 298, 300, 633-634, 651, 658, 664, 783, 786-788.
128. Martínková, J., *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. 2. vydání ed. 2018, Praha: Grada Publishing. 520: p. 156, 455-456, 474.
129. Kleibl, Z., *Buněčný cyklus a apoptóza*, in *Onkogynekologie*. 2009, Grada Publishing: Praha. p. 25-47.
130. Slabý, O., *Lékařská biologie I*. 1. vydání ed. 2022, Brno: Masarykova univerzita. 268: p. 185-194, 196, 215, 217-225.
131. Omoruyi, S.I., et al., *Cytotoxic activities of selected plants of the family Amaryllidaceae on brain tumour cell lines*. *South African Journal of Botany*, 2021. **136**: p. 118-125.
132. McNulty, J., et al., *Selective apoptosis-inducing activity of crinum-type Amaryllidaceae alkaloids*. *Phytochemistry*, 2007. **68**: p. 1068-1074.
133. McNulty, J., et al., *Structure Activity Studies on the Crinane Alkaloid Apoptosis-inducing Pharmacophore*. *Natural product communications*, 2009. **4**: p. 483-8.
134. Nair, J.J., et al., *Apoptosis-inducing effects of distichamine and narciprimine, rare alkaloids of the plant family Amaryllidaceae*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012. **22**: p. 6195-6199.
135. McNulty, J., et al., *Structure-activity studies on acetylcholinesterase inhibition in the lycorine series of Amaryllidaceae alkaloids*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2010. **20**: p. 5290-5294.
136. Nair, J.J., et al., *Alkaloids from Boophone haemanthoides (Amaryllidaceae)*. *Natural product communications*, 2013. **8**: p. 1934578X1300801211.
137. Meshjel, M., *Diversity of Free-Living Protozoa*. *Wasit Journal for Pure sciences*, 2024. **3**: p. 238-258.

138. Jíra, J., *Lékařská protozoologie*. 1. vydání ed. 2009, Praha: Galén. 567: 13, 51-52, 68-71, 311-312, 330-331, 345-346, 350-351.
139. Šíma, P., V. Boštíková, and L. Siráková, *Malárie, její původci, diagnostika, léčba a možnosti vakcinace*. Vakcinologie, 2022: p. 120-130.
140. Stejskal, F., et al., *Diagnostika, léčba a profylaxe malárie v ČR*. Klinická mikrobiologie a infekční lékařství, 2018: p. 20-30.
141. Vaništa, J., *Malárie - klinický obraz a léčba*. Postgraduální medicína, 2005: p. 214-218.
142. Team, W. *World malaria report 2023*. 2023. **2024**, 283; Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240086173>
143. WFO. *Cinchona officinalis* L. WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 13.8.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0001132044>.
144. WFO. *Artemisia annua* L. WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 13.8.]; Available from: <https://worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000083255>.
145. Breiterová, K.H., et al. *Derivatives of Amaryllidaceae Alkaloid Ambelline as Selective Inhibitors of Hepatic Stage of Plasmodium berghei Infection In Vitro*. Pharmaceutics, 2023. **15**, DOI: 10.3390/pharmaceutics15031007.
146. Zvěřová, M., *Alzheimerova demence*. 1. vydání ed. 2017, Praha: Grada Publishing. 144: p. 10, 23, 33-35, 37-38, 40, 42-44, 53, 60, 69-70, 73-74, 77.
147. Callone, P.R., et al., *Alzheimerova nemoc, 300tipů a rad, jak ji zvládat lépe*. 1. vydání ed. 2008, Praha: Grada Publishing. 120: p. 21-22, 28.
148. Long, S., C. Benoist, and W. Weidner. *World Alzheimer Report 2023: Reducing dementia risk: never too early, never too late*. 2023 [cited 2024 16.7.]; Available from: <https://www.alzint.org/u/World-Alzheimer-Report-2023.pdf>.
149. Association, A.s. *2024 Alzheimer's Disease Facts and Figures*. 2024 [cited 2024 16.7.]; Available from: <https://www.alz.org/media/documents/alzheimers-facts-and-figures.pdf>.
150. Jiráček, R., J. Obenberger, and M. Preiss, *Alzheimerova choroba*. 1998, Praha: MAXDORF. 64: p. 8-9, 15-22.
151. Koukolík, F. and R. Jiráček, *Alzheimerova nemoc a další demence*. 1. vydání ed. 1998, Praha: Grada Publishing. 232: p. 22, 27, 56, 74, 90-91, 214, 218.
152. Zvěřová, M., *Clinical aspects of Alzheimer's disease*. Clinical Biochemistry, 2019. **72**: p. 3-6.
153. Korábečný, J., O. Soukup, and M.a.k. Vališ, *Alzheimerova nemoc*. 1. vydání ed. 2020, Praha: Maxdorf. 198: p. 16-18.
154. Brunovský, M., *Inhibitory cholinesteráz v léčbě Alzheimerovy nemoci*. Neurologie pro praxi, 2007. **2**: p. 112-117.
155. Elgorashi, E.E., et al., *Quantitative structure–activity relationship studies on acetylcholinesterase enzyme inhibitory effects of Amaryllidaceae alkaloids*. South African Journal of Botany, 2006. **72**: p. 224-231.
156. López, S., et al., *Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and Narcissus extracts*. Life Sciences, 2002. **71**: p. 2521-2529.
157. WFO. *Scadoxus Raf.* WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 14.8.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000034220>.
158. WFO. *Nerine Herb.* WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 14.8.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000025955>.

159. WFO. *Haemanthus* L. WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 14.8.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000016670>.
160. WFO. *Crossyne Salisb.* WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 14.8.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000009786>.
161. WFO. *Nerine laticoma subsp. huttoniae (Schönland) Traub.* WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 14.8.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000772459>.
162. Cahlíková, L., et al., *In vitro inhibitory effects of 8-O-demethylmaritidine and undulatine on acetylcholinesterase and their predicted penetration across the blood–brain barrier.* Journal of natural products, 2015. **78**: p. 1189-1192.
163. Bay-Smith, M.G.K., et al., *Phylogenetic selection of target species in Amaryllidaceae tribe Haemantheae for acetylcholinesterase inhibition and affinity to the serotonin reuptake transport protein.* South African Journal of Botany, 2011. **77**: p. 175-183.
164. WFO. *Zephyranthes carinata Herb.* WFO, The World Flora Online 2023 [cited 2024 25.8.]; Available from: <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000752542>.
165. Elisha, I.L., et al., *Acetylcholinesterase inhibitory effects of the bulb of Ammocharis coranica (Amaryllidaceae) and its active constituent lycorine.* South African Journal of Botany, 2013. **85**: p. 44-47.
166. Cheesman, L., J.J. Nair, and J. van Staden, *Antibacterial activity of crinine alkaloids from Boophone disticha (Amaryllidaceae).* Journal of Ethnopharmacology, 2012. **140**: p. 405-408.
167. Nielsen, N.D., et al., *Screening of indigenous plants from South Africa for affinity to the serotonin reuptake transport protein.* Journal of Ethnopharmacology, 2004. **94**: p. 159-163.
168. Coetser, M. *The People of South Africa.* 2017 [cited 2024 14.8.]; Available from: <https://discover.hubpages.com/education/The-people-of-South-Africa>.
169. Nair, J.J. and J. Van Staden, *Traditional usage, phytochemistry and pharmacology of the South African medicinal plant Boophone disticha (L.f.) Herb. (Amaryllidaceae).* Journal of Ethnopharmacology, 2014. **151**: p. 12-26