

**Edice
Chemické
Lístky**



Michal JURÁŠEK a Pavel DRAŠAR,

hlavní autoři a editoři,

sborníku

ORGANICKÉ

PŘÍRODNÍ LÁTKY

v zrcadle časopisu

CHEMICKÉ LISTY

2021-2025

Česká společnost chemická

a

redakce časopisu Chemické listy

Praha

2026

Dear readers, please cite the information from this collection as the original paper in Chem. Listy, as listed on the top of the first page of every contribution, e.g.

Author X.: Chem. Listy 111, 23-57 (2000).

±†òŠyŋ ōúŠy†ŋλΣ ŌłúdzúŤ LJN2ăŋY λy†2ŋYI-ŌŤ Î ú2K2ú2 äō2ŋyŋŋdz 2I·ŋ2 LJăŌ2Ťyŋ
őf†yŤŋŋ Ō /KŤYφ [łăúèΣ 2I·ŋ 2Ť dzŌŤŤŤy2 Ō K2ŋyŋ ō†ăúŋ LJNŌyŋ äúŋ†yŋè ŋI-ŌŤŤK2
LJŋŋăLJŤŌŋdzŋ yŋ-LJŋŋφ

! dzú2ŋ - φY /KŤYφ [łăúè 111Σ нопрт онллúφ



Organické přírodní látky v zrcadle časopisu Chemické listy, 2021-2025

Hlavní autoři a editoři: doc. Ing. Michal **JURÁŠEK, PhD.** a prof. RNDr. Pavel **DRAŠAR, DSc.**

Seznam autorů jednotlivých příspěvků je uveden na str. 251.

Typografická úprava: Ing. Radmila ŘÁPKOVÁ.

Fotografie: RNDr. Zdeněk Putz CSc.

Vydání publikace bylo schváleno redakční radou časopisu Chemické listy.

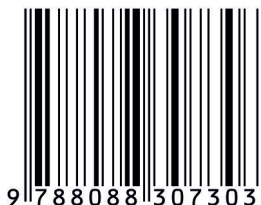
Vydala: Česká společnost chemická.

Vydání první, počet stran 251, ediční číslo 12568-2026-01.

© Česká společnost chemická, redakce časopisu Chemické listy, Praha 2026.

ISBN elektronické verze (formát PDF) 978-80-88307-30-3

ISBN 80-88307-30-3



Organické přírodní látky v zrcadle časopisu Chemické listy, 2021-2025

V roce 160. výročí založení České společnosti chemické a 150. výročí založení časopisu Chemické listy bylo rozhodnuto začít vydávat tematické sborníky z článků, zveřejněných v časopise Chemické listy. Výběr je samozřejmě zaujatý, jsou zde zatím pominuty články specializované především na analytiku či biochemii.

Společnost i redakce k tomuto přistoupila zejména z důvodu lepší propagace časopisu a obecně i činnosti Společnosti.

Volným předchůdcem zamýšlené série sborníků je sborník BAREVNÉ A CHUŤOVÉ LÁTKY V PŘÍRODĚ A POTRAVINÁCH, vydaný v roce 2016.

Časopis Chemické listy publikuje systematicky studie zaměřené na izolaci, strukturní analýzu, biologickou aktivitu a syntézu organických přírodních látek. Přehledy zahrnují sekundární metabolity, enzymovou syntézu a výběr látek, odpovědných za specifické vlastnosti, jako jsou percepční vjemy.

Redakce tuto serii vnímá jako užitečnou učební pomůcku a předpokládá nejen to, že s ní budou učitelé pracovat, ale že naleznou odvahu a podobné články do Chemických listů začnou psát i oni.

Redakce



KARDIOGLYKOSIDY: TERAPEUTICKÝ POTENCIÁL PRO LÉČBU NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ	1
Jiří Bejček, Vojtěch Spiwok, Eva Kmoníčková, Tomáš Ruml, Silvie Rimpelová	
RASTLINNÉ TOXÍNY V EXOTICKÝCH MEDOCH – „ŠIALENOM“ MEDE A „TUTÍNOVOM“ MEDE	10
Katarína Kromerová, Vladimír Bencko	
ARYL-7-DEAZAPURINOVÉ NUKLEOSIDY A JEJICH BIOLOGICKÁ AKTIVITA	16
Pavla Perlíková	
BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY Z MOŘSKÝCH ŘAS A SINIC	23
Tereza Přerovská, Eva Benešová a Petra Lipovová	
ROD <i>Monascus</i> A JEHO SEKUNDÁRNÍ METABOLITY	31
Markéta Husáková	
VENENUM BUFONIS – PANACEA?	36
Michal Jurášek, Lubomír Opletal, Eva Kmoníčková, Pavel Drašar	
O JALOVČINKÁCH A JALOVCOVÉ	41
Michal Jurášek, Lubomír Opletal, Pavel Drašar	
CHARAKTERIZACE BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V ŘEPÍKU LÉKAŘSKÉM	46
Anna Loučková, Kamila Hůrková, Jana Hajšlová	
O ZÁZRAČNÉ MOCI „KOŘENE JELENA MARALA“	50
Michal Jurášek, Lubomír Opletal, Juraj Harmatha, Karel Sláma, Pavel Drašar	
NEUROHYPOFYZÁRNÍ PEPTIDY V LÉKAŘSTVÍ Z PRAŽSKÝCH A ŠVÉDSKÝCH LABORATOŘÍ.	57
ČÁST I: HISTORIE VÝZKUMU A POČÁTKY PRODUKCE LÉKOVÝCH FOREM	
Vladimír Pliska, Antonín Pařízek, Martin Flegel	
NEUROHYPOFYZÁRNÍ PEPTIDY V LÉKAŘSTVÍ Z PRAŽSKÝCH A ŠVÉDSKÝCH LABORATOŘÍ.	65
ČÁST II: DESMOPRESSIN, TERLIPRESSIN, CARBETOCIN – FARMAKOLOGIE A KLINICKÉ APLIKACE	
Vladimír Pliska, Antonín Pařízek, Martin Flegel	
O HORMONU MLÁDÍ	74
Michal Jurášek, Luboslav Stárka, Pavel Drašar	
O ZÁZRAKU PŘÍRODY Z ŘEPKOVÉHO PYLU	78
Michal Jurášek, Pavel Drašar	
VITAMIN E – ZNÁMÝ ČI NEZNÁMÝ?	83
Jakub Fišnar, Zuzana Réblová	
KURKUMA, ŽLUTÝ ZÁZRAK Z VÝCHODU	89
Michal Jurášek, Pavel Drašar	
LIMONÉN A JEHO OXIDOVANÉ DERIVÁTY: VLASTNOSTI, APLIKÁCIE A BIOTECHNOLOGICKÁ PRODUKCIA	92
Katarína Kaniaková, Helena Hronská, Dominika Šilhárová, Michal Rosenberg	
FYTOSTEROLY A STERYLGLYKOZIDY V POSTFERMENTAČNOM KUKURIČNOM OLEJI A ICH VPLYV NA KVALITU BIOPALÍV	99
Mária Holíčková, Petra Ondrejčíková, Valentína Kafková, Veronika Cyprichová	
ZÁZVOR, Z JÍDELNÍHO STOLU ROVNOU DO LÉKÁRNY	106
Michal Jurášek, Pavel Drašar	
O CHMELOVÝCH HLÁVKÁCH DO ZLATAVÉHO MOKU	

Michal Jurášek, Adolf Rybka, Lubomír Opletal, Pavel Drašar	109
O HALUCINOGENNÍM ORÍŠKU V NAŠÍ KUCHYNI	
Michal Jurášek, Pavel Drašar	113
IZOLÁCIA PRÍRODNÝCH ZLÚČENÍN S ORGANOLEPTICKÝMI VLASTNOSTAMI POUŽITÍM VYBRANÝCH POKROČILÝCH EXTRAKČNÝCH TECHNÍK	
Veronika Výbohová, Katarína Hroboňová	117
O LESNÍM ENTHEOGENU	
Michal Jurášek, Lubomír Opletal, Pavel Drašar	125
O SÍLE PAŇDŽÁBSKÉHO ASFALTU	
Michal Jurášek, Josef Cabalka, Pavel Drašar	131
HUMINOVÉ LÁTKY, CHARAKTERIZACE A NÁZVOSLOVNÉ DOPORUČENÍ	
Pavel Drašar, Josef Kozler, Oldřich Paleta	135
BETULONOVÁ A PLATANOVÁ KYSELINA JAKO ZÁKLAD PRO SYNTÉZU NOVÝCH TERAPEUTICKY ÚČINNÝCH LÁTEK	
Lucie Černá, Zdeněk Wimmer, Angelina Massyagutova, Petra Lovecká	139
PRUDKÝ ODVAR Z VRBOVÉ KŮRY	
Michal Jurášek, Lubomír Opletal, Pavel Drašar	147
STANOVENÍ VYBRANÝCH BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V LEVANDULI LÉKAŘSKÉ VYPĚSTOVANÉ V ČESKÉ REPUBLICE	
Iveta Šístková, Vojtěch Kružík, Iveta Horsáková, Helena Neumannová, Helena Čížková	156
NUKLEOSIDOVÁ CHEMIE V ÚOCHB – OHLÉDNUTÍ DO HISTORIE	
Marcela Krečmerová	162
IGF2: OPOMÍJENÝ HORMON Z RODINY INZULINU S VÝZNAMNÝM TERAPEUTICKÝM POTENCIÁLEM	
Tereza Turnovská, Jiří Jiráček, Lenka Žáková	172
POČÁTKOVÉ CHEMIE STEROIDŮ V ČESKÝCH ZEMÍCH	
Pavel Drašar	182
VÝROBA STEROIDNÍCH HORMONŮ V GALENĚ OPAVA	
Ladislav Cvak	188
SARVA ROGA NIVARINI, DAR BOHŮ	
Michal Jurášek, Pavel Drašar	195
ASHWAGANDHA, AJURVEDICKÝ ZDROJ MLÁDÍ	
Michal Jurášek, Pavel Drašar	198
POČÁTKOVÉ CHEMIE TERPENŮ V ČESKÝCH ZEMÍCH	
Pavel Drašar	201
POVĚSTMI OPŘEDENÉ JMELÍ BÍLÉ (<i>Viscum album</i> L.): HISTORIE JEHO VYUŽÍVÁNÍ V LÉČBĚ A LÁTKY V NĚM OBSAŽENÉ	
Tomáš Lener, Karel Nesměrák	207
VÝROBA KARDENOLIDŮ V GALENĚ OPAVA	
Ladislav Cvak	216
LÉČIVÁ SÍLA DARŮ MÁGŮ	
Michal Jurášek, Pavel Drašar	223
CÍSAŘSKÝ KVĚT PODZIMNÍHO SLUNCE PLNÝ LÉČIVÉ SÍLY	
Michal Jurášek, Lubomír Opletal, Pavel Drašar	233
O TOM, JAK KVÍTÍ SVATÉHO JANA ZAHÁNÍ NOČNÍ OBLUDY I ZLÉ DUCHY A ČLOVĚKU PROSPÍVÁ I ŠKODÍ	
Michal Jurášek, Pavel Drašar	239
O HOŘKÉM HOŘCI A HOŘKÉM HOŘEČKU	
Michal Jurášek, Pavel Drašar	245
AUTORSKÝ REJSTŘÍK	251



KARDIOGLYKOSIDY: TERAPEUTICKÝ POTENCIÁL PRO LÉČBU NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

JIŘÍ BEJČEK^a, VOJTĚCH SPIWOK^a,
EVA KMONÍČKOVÁ^b, TOMÁŠ RUML^a a SILVIE
RIMPELOVÁ^a

^a Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6,

^b Ústav farmakologie a toxikologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, alej Svobody 1655/76, 323 00 Plzeň

silvie.rimpelova@vscht.cz

Došlo 27.2.20, přepracováno 4.8.20, přijato 6.8.20.

Klíčová slova: digoxin, digitoxin, kardioglykosidy (srdeční glykosidy), ouabain, protinádorová aktivita, přírodní látky, sodno-draselná pumpa (Na^+/K^+ -ATPasa)

Obsah

1. Úvod
2. Výskyt kardioglykosidů
3. Chemická struktura kardioglykosidů
4. Biosyntéza kardioglykosidů
5. Biologická aktivita kardioglykosidů
6. Antineoplastický potenciál kardioglykosidů
7. Závěr

1. Úvod

Rozličné mechanismy umožnily evoluci stále složitějších a různorodějších systémů. Ty postupem času získaly schopnost produkovat látky, které jim umožnily získat nad okolím jisté výhody a zvýšit tak šanci na přežití. Rostliny v tomto ohledu získaly převahu nad živočichy. Tím, že se nemohou v případě nebezpečí fyzicky bránit nebo utéct, si vyvinuly alternativní způsob obrany. Staly se tak důležitým zdrojem tzv. sekundárních metabolitů – látek s rozmanitou chemickou strukturou a zajímavými biologickými účinky.

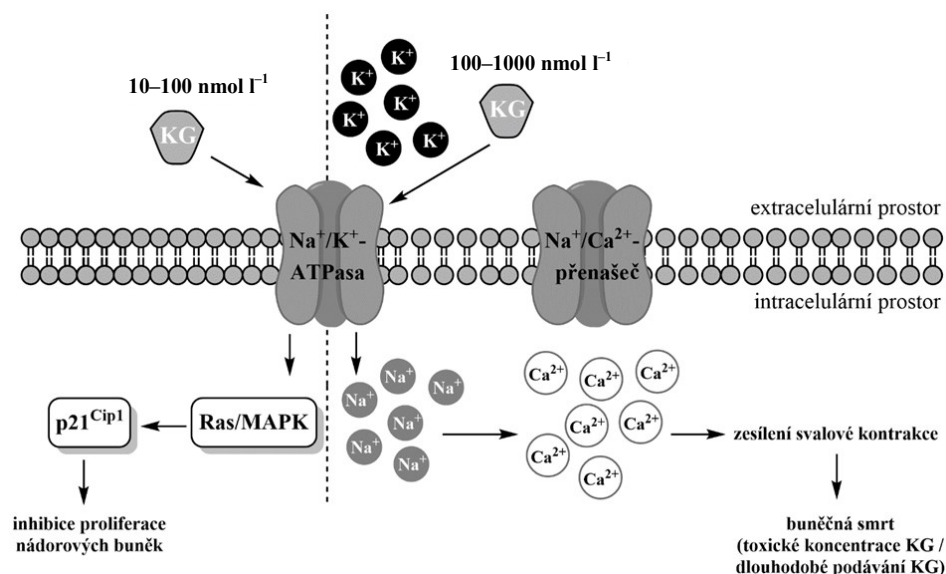
V dobách, kdy neexistovala organická syntéza, byly rostliny jedním z nejvýznamnějších zdrojů léčivých látek, které byly předchůdci dnešních moderních léčiv. A právě struktury těchto látek inspirovaly spoustu medicínálních chemiků a farmaceutických firem k vývoji léčiv, se kterými se dnes běžně setkáváme. Kyselina acetylsalicylová, užívaná k léčbě bolesti, má původ v salicinu, který je obsažen ve vrbové kůře (*Salix alba*)¹. Přírodní opioidy obsažené v máku setém (*Papaver somniferum*) jsou samy

o sobě silná analgetika, ale znalost jejich struktury umožnila vznik ještě silnějších syntetických analgetik². Taxany, sloužící jako chemoterapeutika, se nacházejí v kůře tisů západoamerického (*Taxus brevifolia*) a v jehlicích tisů červeného (*Taxus Baccata*)³. Dobře známý je taktéž chinin izolovaný z chinovníku červeného (*Cinchona succirubra*) užívaný k léčbě malárie⁴. V neposlední řadě existují látky, které jsou již dlouho zavedené jako léčiva v terapii srdečního selhání a srdečních arytmií. Jedná se o látky ze skupiny kardioglykosidů (KG), jejichž hlavním zdrojem jsou rostliny rodu náprstníků (*Digitalis*).

První zmínky o používání KG k léčebným účelům sahají až do starověkého Egypta a jsou zaznamenány na tzv. Ebersově papýru, který se datuje přibližně do roku 1555 př. n. l. V té době byly využívány jako složka antidot proti některým jedům. Ačkoli se někteří badatelé zabývali KG již dříve, do širšího povědomí se dostaly až díky Wiliamu Witheringovi, který ve své práci v r. 1785 publikoval zkušenosti nabyté při užívání KG k léčbě pacientů⁵. Na práci W. Witheringa navázali další autoři s různou mírou úspěchu. Skutečný rozmach v užívání KG nastal až ve 20. století a dnes se řadí mezi 200 nejužívanějších léků v USA (cit.⁶). Do České republiky bylo v roce 2019 dodáno zhruba 400 000 balení léčivých přípravků obsahujících KG, což je řadí v žebříčku na 80. místo z celkových téměř 10 000 dodávaných léčiv⁷. Nejznámějším a také nejlépe prozkoumaným mechanismem jejich bioaktivního působení je inhibice sodno-draselné pumpy (NKA; z angl. Na^+/K^+ -ATPase; obr. 1), která je spojena právě s již zmíněným využitím KG jako léčiv srdečních arytmií a srdečního selhání. Mimo jiné se v dnešní době dostávají KG do popředí zájmu jako potenciální léčiva nádorových onemocnění. V následujících kapitolách jsou shrnuty chemické struktury, biosyntéza, biologická aktivita a antineoplastický potenciál KG včetně nejvýznamnějších klinických studií.

2. Výskyt kardioglykosidů

KG jako sekundární metabolity rostlin se v různé míře nacházejí téměř ve všech jejich částech (shrnuje v cit.⁸). Hlavní úlohou KG v rostlinách je ochrana proti škůdcům⁹, ačkoli někteří z nich si proti KG vytvořili účinnou obranu¹⁰. Na obr. 2 jsou uvedeny strukturální vzorce vybraných KG. Mezi nejvýznamnější zástupce patří látky digitoxin (Dgt) a digoxin (Dg), které se vyskytují v rostlinách z rodu náprstníku z čeledi jitrocelovitě, především pak v náprstníku červeném (*Digitalis purpurea*) a náprstníku vlnatém (*Digitalis lanata*)^{11,12}. Dále ouabain nacházející se v krutikvětě cenném (*Strophanthus gratus*)¹³ a oleandrin vyskytující se v oleandru obecném (*Nerium oleander L.*)^{14,15}. Hyrkanosid byl izolován ze semen čičo-



Obr. 1. Ilustrativní schéma dvou nejvýznamnějších mechanismů účinku kardioglykosidů (KG) při nízkých (10–100 nmol l^{-1} ; vlevo) a vysokých (100–1000 nmol l^{-1} ; vpravo) koncentracích. Ras/MAPK – mitogenem aktivovaná proteinkinasa; p21^{Cip1} – inhibitor 1 cyklin-dependentní kinasy

rečky pestré (*Coronilla varia*)¹⁶. Výskyt dalších zástupců KG je shrnut v literatuře¹⁷.

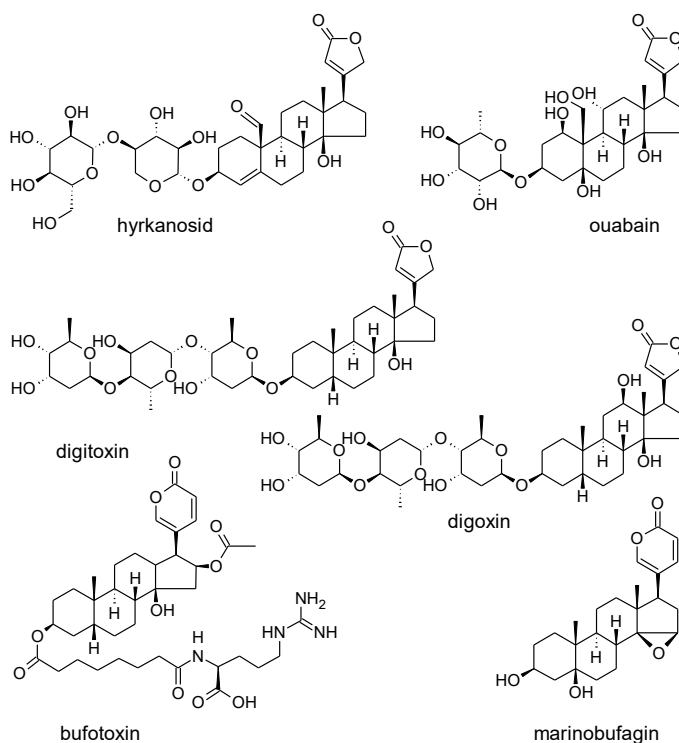
KG jsou sice známé především jako rostlinné metabolity, nicméně se vyskytují i v říši živočišné. Příkladem takových látek jsou bufogenin a bufotoxin, které jsou izolovány z ropušního jedu¹⁸ a marinobufagin detegovaný v lidské plasmě¹⁹.

Je pozoruhodné, že některé KG mají své ekvivalenty jak v rostlinné, tak v živočišné říši. Tyto látky se souhrnně označují jako látky podobné látkám z náprstníku (z angl. digitalis-like factors). V této souvislosti byla v lidské plasmě objevena existence „endogenního ouabainu“ (někdy také překládáno jako ouabainu podobná látka; z angl. ouabain-like factor), který je strukturně totožný se svým rostlinným analogem²⁰. Do plasmy je endogenní ouabain sekretovaný pravděpodobně kůrou nadledvin, neboť byla pozorována jeho produkce buňkami odvozenými z této tkáně²¹. V lidské plasmě byla rovněž objevena existence Dg podobných látek (z angl. digoxin-like factors), které svými biologickými vlastnostmi připomínají rostlinný Dg. Dg podobné látky jsou vylučovány močí pacienty trpícími renální dysfunkcí²² a zvýšeným krevním tlakem²³. Někdy se také označují jako Dg podobné imuno-reaktivní faktory (z angl. digoxin-like immunoreactive factors), neboť interagují s protilátkami původně určenými proti Dg, a proto také interferují při klinickém stanovení Dg v plasmě²⁴.

3. Chemická struktura kardioglykosidů

Z chemického hlediska se KG řadí mezi steroidní látky. Jejich molekula se tedy skládá ze steroidního skeletu, který je substituován methylovými skupinami v polohách C-10 β , C-13 β , hydroxylovou skupinou v poloze C-14 β a nenasyceným laktonem v poloze C-17 β . Podle typu laktonu dělíme KG na kardenolidy a bufadienolidy. V kardenolidech se nachází pětiuhlíkatý furanový cyklus a v bufadienolidech šestiuhlíkatý pyranonový cyklus. V poloze C-3 je dále obvykle přítomen sacharid (nejčastěji D-glukosa, D-digitoxosa nebo L-rhamnosa). Stejně jako u ostatních glykosidů se steroidní skelet KG bez navázaného sacharidu nazývá aglykon (genin).

Biologická aktivita KG vychází stejně jako u jiných látek z jejich chemické struktury, která ovlivňuje sílu vazby s jejich nejvýznamnějším molekulárním cílem – NKA. Základní strukturou KG, která je nezbytná pro jejich biologický účinek, je 3 β ,5 β ,14 β -androstan-3,14-diol. Modifikace této základní struktury, především přítomnost laktonu v poloze C-17 β a sacharidů v poloze C-3, má významný vliv na biologickou aktivitu výsledného KG stejně jako na jeho farmakokinetické parametry, jako je např. rozpustnost ve vodě, biologický poločas a způsob vylučování²⁵. Nasycení a stejně tak otevření laktonového cyklu kardenolidů má za následek snížení biologické aktivity KG (cit.^{26,27}). Rovněž počet a typ sacharidových jednotek v pozici C-3 má vliv na biologickou aktivitu výsledného KG. Aglykon příslušného KG má obvykle nižší biologickou aktivitu než jeho glykosylované formy. S rostoucím stupněm glykosy-



Obr. 2. Strukturní vzorce vybraných kardioglykosidů

lace biologická aktivita KG rovněž klesá a nejvyšší je tudíž u monoglykosylovaných KG (cit.^{28,29}).

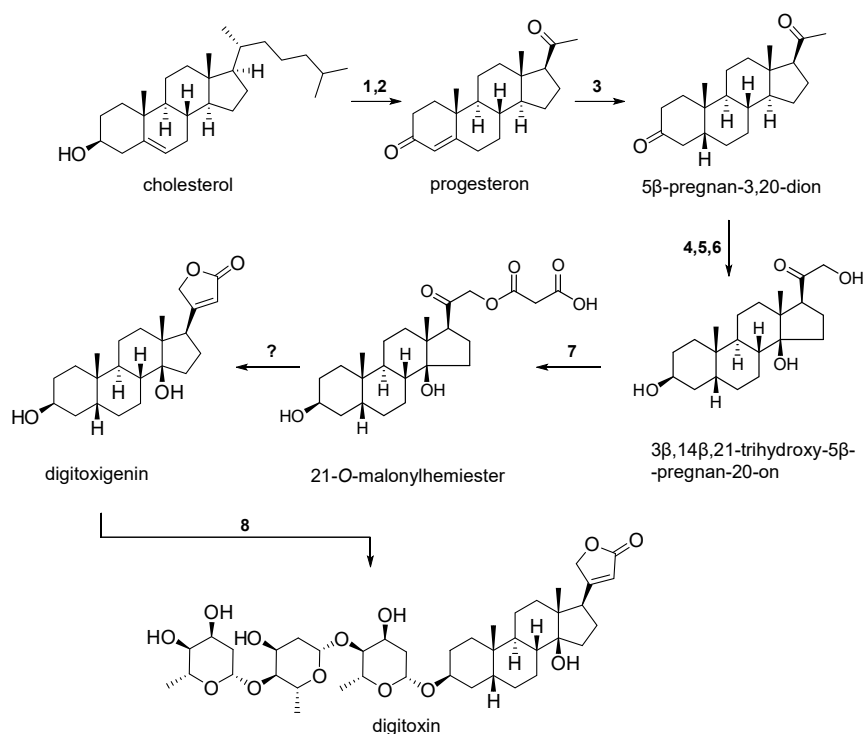
Vazebná kapsa NKA se skládá z polárního a nepolárního povrchu, z čehož vyplývá, že vhodné rozložení substituentů na steranovém skeletu KG má za následek nárůst afinity příslušného KG k NKA. Pro názornou ukázkou lze využít molekulu ouabainu (obr. 2). Ta obsahuje hydroxylové skupiny v pozicích C-1 β , C-11 α a C-19, které interagují s polárními aminokyselinami Gln₁₁₁ a Thr₇₉₇ NKA. Magpusao a spol. prokázali²⁷, že při blokování hydroxylových skupin na uhlících C-1 a C-19 dojde k podstatnému nárůstu aktivity výsledného derivátu, a to přibližně 120krát.

4. Biosyntéza kardioglykosidů

Vzhledem k značnému terapeutickému potenciálu kardenolidů a také s ohledem na velké množství dostupné literatury bude pro účely tohoto přehledového článku diskutována pouze biosyntéza kardenolidů v rostlinách rodu *Digitalis*. Z hlediska reakčních prekursorů je možné ji rozdělit do několika dílčích kroků (obr. 3). Prvním významným prekurzorem kardenolidů je cholesterol, který je konvertován na progesteron pomocí cholesterolmonooxygenasy (EC 1.14.15.6) a 3 β -hydroxysteroiddehydrogenasy (EC 1.1.1.145)³⁰. Progesteron je následně redukován pomocí progesteron-5 β -reduktasy (EC 1.3.1.3) na 5 β -

-pregnan-3,20-dion³¹. Konverze 5 β -pregnan-3,20-dionu na 3 β ,14 β ,21-trihydroxy-5 β -pregnan-20-on se účastní 3 β -hydroxysteroiddehydrogenasa (EC 1.1.1.145) a dva další hypotetické enzymy (pregnan-14 β -hydroxylasa a 14 β -hydroxypregnan-21 β -hydroxylasa), jejichž existence dosud nebyla plně prokázána. Poslední část syntézy aglykonu zahrnuje reakci 3 β ,14 β ,21-trihydroxy-5 β -pregnan-20-onu s malonyl-CoA za vzniku hemiesteru katalyzovanou malonyl-koenzym A:21-hydroxypregnan-21-O-malonyltransferasou (*Dp21MaT*; EC 2.3.1.-)³² následovanou kondenzační reakcí za vzniku laktonového cyklu pomocí zatím neznámého enzymu³³. Aglykon je poté glykosylován pomocí glukosyltransferasy (EC 2.4.1.-) na příslušný kardioglykosid^{34,35}.

I když se objevily snahy o izolaci KG z endofytické houby *Epicoccum nigrum* pro dosažení vyšších výtěžků³⁶, zůstávají nejvýznamnějším zdrojem KG stále rostliny – zejména z rodu *Digitalis*¹⁰. Množství produkovaných KG je ovlivněno několika faktory, jako je vlnová délka světla³⁷, přítomnost biotických i abiotických elicitorů³⁸ a nedostatek Ca²⁺. Snížená koncentrace Ca²⁺ způsobuje zvýšenou produkci peroxidu vodíku (elicitor), který působí jako stresový faktor, čímž dochází k vyšší produkci sekundárních metabolitů rostlin, a tedy i KG (cit.³⁹).



Obr. 3. Schéma biosyntézy digitoxinu z cholesterolu. Enzymy: 1 – cholesterolmonooxygenasa (EC 1.14.15.6), 2 – 3β-hydroxysteroiddehydrogenasa (EC 1.1.1.145), 3 – progesteron-5β-reduktasa (EC 1.3.1.3), 4 – 3β-hydroxysteroiddehydrogenasa (EC 1.1.1.145), 5 – pregnan-14β-hydroxylasa (hypotetický), 6 – 14β-hydroxypregnan-21β-hydroxylasa (hypotetický), 7 – malonyl-koenzym A:21-hydroxypregnan-21-O-malonyltransferasa (EC 2.3.1-), 8 – glukosyltransferasy (EC 2.4.1.-)

5. Biologická aktivita kardioglykosidů

Biologická aktivita KG zahrnuje vazbu na různé buněčné proteiny. Nejznámější a nejvíce prozkoumaná je jejich schopnost inhibice NKA, která je podstatou využití KG jako léčiv srdečního selhání a srdečních arytmií. NKA se podílí na udržování fyziologické koncentrace Na^+ a K^+ iontů a při její inhibici tudíž dochází k narušení iontové rovnováhy a tím souvisejícímu nárůstu intracelulární koncentrace Na^+ . Na tento stav následně reaguje $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ přenašeč změnou směru transportu, což způsobí nárůst intracelulární koncentrace Ca^{2+} s následným stahem srdeční tkáně. Tento jev se označuje jako tzv. pozitivně ionotropní účinek⁴⁰. Nevýhodou KG jako léčiv je jejich úzké terapeutické okno a jedním ze znaků předávkování jsou v případě srdečního svalu jevy tzv. brzké a pozdní následné depolarizace (z angl. early and delayed after depolarization), ke kterým dochází následkem narušení homeostázy koncentrace Na^+ a Ca^{2+} , což způsobuje opět srdeční arytmiie⁴¹. V současnosti se v klinické praxi používá výhradně digoxin. Další dva nejznámější KG, digitoxin a ouabain, mají méně výhodné farmakokinetické a farmakodynamické vlastnosti. Jsou ale využívány v experimentální farmakologii pro porovnání účinků strukturně podobných látek.

Kromě indukce pozitivního ionotropního efektu má zvýšená koncentrace Ca^{2+} vliv na další buněčné pochody, při kterých dochází ke zvýšenému transportu Ca^{2+} do mitochondrií. Při dlouhodobém působení KG je přesažena pufrovací kapacita mitochondrií, narušen elektrochemický potenciál a spuštěna apoptotická dráha⁴².

Kromě transportu Na^+ a K^+ iontů přes cytoplasmatickou membránu plní NKA také funkci receptoru – podílí se na regulaci proliferace buněk. V takovém případě se NKA vyskytuje v komplexu s proteinkinasou Src, která není aktivní. Po navázání KG se Src kinasa aktivuje a spouští tak signální dráhu mitogenem aktivované proteinkinasy (Ras/MAPK; z angl. Rat sarcoma protein/mitogen-activated protein kinase) s následnou aktivací řady transkripčních faktorů⁴³ (podrobně v literatuře). Děje se tak v případě, kdy je koncentrace KG dostatečně nízká a dochází tak pouze k částečné inhibici NKA. Aktivace této signální dráhy má za následek inhibici proliferace buněk, která je zprostředkována zvýšením produkce inhibitoru buněčného cyklu p21^{Cip1} (z angl. cyclin-dependent kinase inhibitor 1) (cit.⁴⁴; obr. 1). Nicméně aktivací Src kinasy může dojít naopak také ke stimulaci buněčné proliferace transaktivací receptoru pro epidermální růstový faktor. Neaktivní Src kinasa v komplexu s NKA je také důvodem, proč u nádorových buněk s nízkou produkcí NKA dochází

k jejich zvýšené proliferaci⁴⁶. Inhibice proliferace je také možné docílit stimulací buněk syntetickým peptidem, který je odvozen od struktury NKA a interaguje tak se Src kinasou⁴⁷.

Při vazbě KG na NKA dochází, kromě výše zmíněných efektů, také k okyselení intracelulárního prostředí. Tento jev je zprostředkován účinkem Na^+/H^+ přenašeče, který za fyziologických podmínek přenáší H^+ ven z buňky a Na^+ dovnitř do buňky. V případě nárůstu intracelulární koncentrace Na^+ dojde k obrácení směru transportu, což má za následek snížení pH a případně až apoptózu buňky^{48–50}.

Biologická aktivita KG není vždy spojena jen s vazbou na NKA. Bylo zjištěno, že kromě NKA mají KG vliv také na signální dráhu faktoru nádorové nekrózy α / nukleárního faktoru kappa B (TNF- α /NF- κ B; z angl. tumor necrosis factor alpha/nuclear factor kappa B), která reguluje imunitní odpověď organismu na patologický podnět a v případě jejího zablokování dojde ke snížení zánětlivé reakce⁵¹. KG dále působí cytotoxicky inhibicí aktivity topoisomerasy I a II (cit.⁵²), které při replikaci a transkripci za normálních okolností snižují napětí v rozvolňujícím se vlákne DNA. Kromě toho byla rovněž prokázána schopnost KG inhibovat produkci hypoxií indukovaného faktoru 1 α (HIF-1 α ; z angl. hypoxia-inducible factor 1 α). Produkce HIF-1 α pomáhá buňkám vyrovnat se s nedostatečným zásobením kyslíkem, které je typické pro vysoce metabolicky aktivní nádorovou tkáň. Inhibice produkce HIF-1 α tedy napomáhá destrukci nádoru⁵³. Antiproliferačních účinků je také možné docílit aktivací objemem regulovaných aniontových kanálů (VRAC; z angl. volume-regulated anion channels). VRAC transportují anionty přes cytoplasmatickou membránu ven z buňky v případě zvýšeného transportu vody do cytoplasmu, nachází-li se buňka v hypotonickém prostředí. Tím pomáhají vyrovnat koncentrační rozdíl a následně snížit buněčný objem. V membránových mikrodoménách jsou VRAC asociovány s NKA, která postrádá transportní funkci; místo toho po stimulaci KG přenáší signál na VRAC, které jsou otevřeny a dochází k redukci buněčného objemu a omezení růstu nádoru⁵⁴.

Kromě výše popsané antiproliferační aktivity KG, mohou tyto látky také inhibovat expresi genu viru HIV. Tento jev pravděpodobně souvisí s rolí NKA jako receptoru, neboť pro několik KG byla pozorována inhibice produkce virových proteinů již při nanomolárních koncentracích⁵⁵. Antivirová aktivita KG byla popsána také pro lidský cytomegalovirus, a to pravděpodobně díky snížení exprese genu pro draselný kanál (*hERG*; z angl. human ether-à-go-go related gene)⁵⁶.

6. Antineoplastický potenciál kardioglykosidů

První zmínky o tom, že KG mají, kromě pozitivně inotropního účinku na srdeční sval, také protirakovinné účinky, se poprvé začaly objevovat v 60. letech minulého století. Od té doby znalost této problematiky značně pokročila. V současné době jsou popsány protinádorové

účinky KG (především pro Dgt a Dg) na širokém spektru nádorových buněk odvozených z nemalobuněčného karcinomu plic^{29,30,57,58}, karcinomu prostaty^{29,30}, prsu^{29,30}, kůže^{29,30}, tlustého střeva^{29,30}, vaječníků^{29,30,59}, ledvin^{29,30}, kostní dřeně^{29,30,59} a pankreatu⁶⁰. Někteří autoři sice uvádějí, že užívání KG je spojeno s vyšším rizikem vzniku rakoviny⁶¹, nicméně jednoznačná průkaznost je v tomto případě obtížná. Jiní autoři naopak toto riziko vyvracejí, a to především proto, že sledovaní pacienti jsou většinou již ve vyšším věku a riziko vzniku rakoviny je v pokročilé fázi života obecně vyšší^{62,63}. V případě rakoviny prostaty bylo dokonce pozorováno nižší riziko jejího vzniku při užívání KG (cit.⁶⁴). López-Lázaro a spol.⁶⁵ ukázali, že Dgt je schopen inhibovat růst buněk odvozených z nádoru ledvin, prsu a kůže při 3–33 nmol l⁻¹ koncentracích, což jsou koncentrace shodné nebo nižší než koncentrace (20–33 nmol l⁻¹) běžně užívané při léčbě srdečních chorob.

Dvěma nejvýznamnějšími mechanismy účinku KG jsou inhibice NKA a aktivace Src kinas, jak již bylo popsáno v kap. 5. Kromě toho také Dgt inhibuje aktivaci fokální adhezivní kinas (FAK), která podporuje angiogenezi a buněčnou migraci⁶⁶, a je schopen vyvolat apoptózu potlačením exprese proto-onkogenu *c-MYC* (cit.⁶⁷). Kromě toho jsou KG také schopné vyvolat imunogenní buněčnou smrt charakterizovanou sekrecí ATP, které slouží jako atraktant dendritických buněk⁶⁸, a sekrecí proteinu kódovaného genem *HMGB1* (HMGB1; z angl.: high-mobility group box 1), který slouží jako aktivátor dendritických buněk. Dále je pro imunogenní buněčnou smrt charakteristická translokace kalretikulinu z endoplazmatického retikula na buněčný povrch⁶⁹. Kalretikulin slouží jako „eat me“ signál a takto „označené“ buňky jsou pak dendritickými buňkami fagocytovány⁷⁰. Dendritické buňky také aktivují T-lymfocyty schopné zničit další nádorové buňky⁷¹. Z tohoto důvodu byl Dg v současné době zařazen do klinické studie v kombinované léčbě s cisplatinou, která je používána pro léčbu řady nádorových onemocnění, ale která imunogenní buněčnou smrt neindukuje⁷². Kromě toho probíhají i další klinické studie na podobné indikace za použití samotného Dg anebo v kombinaci s dalšími léčivými, viz shrnutí v tab. I. Samostatně je Dg studován jako blokátor HIF-1. Nověji je zkoumán vliv Dg na rozpouštění cirkulujících nádorových klastrů a léčbu klasického nebo endemického Kaposiho osteosarkomu. V kombinované terapii je Dg, kromě již zmíněné cisplatinu, studován především z hlediska lékových interakcí u pacientů trpících některým typem nádorového onemocnění (akutní myeloidní leukemie, rakovina slinivky břišní).

Zajímavé je, že Dg vykazuje protinádorovou aktivitu na leukemických buňkách v synergii s inhibitorem odpovědi na nesbalené proteiny (UPR; z angl. unfolded protein response) GSK2606414 prostřednictvím indukce apoptózy a zastavení buněčného cyklu v G2/M fázi a inhibice onkogenní signalizace prostřednictvím proteinkinasy B/savčího cíle rapamycinu (Akt/mTOR; z angl. protein kinase B/mammalian target of rapamycin)⁷³. Protinádorovou aktivitu Dg je také možné ovlivnit zvýšením intracelulární koncentrace Na^+ a Ca^{2+} iontů přidáním NaCl do média.

Tabulka I

Klinické zkoušky kardioglykosidů pro léčbu nádorových onemocnění (cit. ⁷²⁾)

Pořadí	Název studie	Typ rakoviny	Datum vypsání	Stav studie	Fáze	Použité léčivo
1.	Zhodnocení vlivu enzalutamidu na farmakokinetiku digoxinu jako substrátu Pgp a rosuvastatinu jako	rakovina prostaty	19. 09. 2019	nábor zatím neotevřen	I.	enzalutamid, digoxin , rosuvastatin
2.	Farmakodynamické hodnocení digoxinu jako blokátoru HIF-1 u nově diagnostikované, operovatelné rakoviny prsu	rakovina prsu	09. 01. 2013	aktivní, nábor uzavřen	II.	digoxin
3.	Fáze IB pro metformin, digoxin a simvastatin v pevných nádorech	pevné nádory, rakovina slinivky břišní	26. 03. 2019	nábor otevřen	I.	metformin, simvastatin, digoxin
4.	Digoxinem indukované rozpuštění klastrů cirkulujících nádorových buněk	rakovina prsu, cirkulující nádorové buňky	26. 04. 2019	nábor zatím neotevřen	I.	digoxin
5.	Folfirinox s digitoxinem u pacientů s odstranitelnou rakovinou slinivky břišní	rakovina slinivky břišní	28. 10. 2019	nábor zatím neotevřen	II.	digoxin , 5-fluorouracil, calcium leucovorin, irinotecan, oxaliplatin
6.	Farmakokinetika lékových interakcí s rucaparibem	Neoplazma	15. 04. 2016	aktivní, nábor uzavřen	I.	kofein, warfarin, omeprazol, midazolam, digoxin , vitamin K,
7.	Fáze II multicentrické studie digoxinu u klasického nebo endemického Kaposiho osteosarkomu	Kaposiho osteosarkom	08. 08. 2014	nábor otevřen	II.	digoxin
8.	Studie lékových interakcí enasidenibu u pacientů s akutní myeloidní leukémií	akutní myeloidní leukémie	25. 10. 2018	nábor zatím neotevřen	I.	kofein, dextromethorfan, flurbiprofen, midazolam, omeprazol, digoxin , rosuvastatin, pioglitazon

V takovém případě dojde ke zvýšení klidového membránového potenciálu, uvolnění cytochromu c z mitochondrií a spuštění apoptotické dráhy. Kromě toho mají takto ošetřené buňky vyšší citlivost k Dg vzhledem k vyšší produkci NKA, rovněž způsobené zvýšenou intracelulární koncentrací Na⁺ (cit. ⁷⁴). Kromě toho bylo také popsáno, že Dg snižuje rezistenci buněk adenokarcinomu pankreatu na gemcitabin inhibicí jaderného faktoru 2 příbuzného erythroidu 2 (Nrf2; z angl. nuclear factor erythroid 2-related factor 2) ⁷⁵. Běžně využívaná cytostatika, jakými jsou např. oxaliplatin, cisplatin a 5-fluorouracil, působí v kombinaci s Dg synergicky nebo aditivně na buňky z adenokarcinomu tlustého střeva a stejně tak s druhým z nejznámějších KG, Dgt (cit. ⁷⁶). Bylo také popsáno, že Dgt vykazuje synergický antiproliferační účinek s thapsigarginem (inhibitor sarko-/endoplazmatické retikulární vápenaté ATPasy, shrnuto v cit. ⁷⁷) a simvastatinem na modelu karcinomu prsu s deficiencí estrogenního receptoru ⁷⁸. Kromě toho je Dgt a jeho syntetický monosachari-

dový derivát (MonoD) schopen zesílit antiproliferační účinek hydroxymočoviny a paklitaxelu při klinicky relevantních koncentracích na modelu buněk odvozených z karcinomu plic (kultivace s deplecí séra) ⁵⁸. V novější studii byl prokázán antiproliferační účinek Dgt v kombinaci s inhibitory proteinkinas sorafenibem také na buňkách hepatokarcinomu ⁷⁹.

7. Závěr

Výzkum rakoviny dosáhl v posledních letech obrovského pokroku, což pomohlo nejen lépe porozumět příčinám jednotlivých typů nádorových onemocnění, ale i systematickému návrhu nových protinádorových léčiv, která by mohla mít vyšší účinnost i selektivitu než ta v současné době používaná. V řadě studií bylo v posledních letech publikováno, že některé z přírodních látek ze skupiny KG, inhibitory NKA, by bylo možné vyu-

žit pro léčbu rakoviny. Nejen, že vykazují antiproliferační účinky při nízkých nanomolárních koncentracích, ale do určité míry vykazují také selektivitu pro nádorové buňky, a to díky vazbě na α podjednotku NKA. Kromě toho indukují imunogenní buněčnou smrt a aktivují imunitní systém nemocného. Některé z KG (Dg, Dgt) jsou v klinické praxi používány již po dlouhou dobu, ale pro léčbu jiných indikací (srdeční onemocnění). Vzhledem k tomu, že koncentrace KG nutné pro léčbu nádorových onemocnění jsou mnohem nižší než koncentrace používané pro jiné indikace, mohl by být schvalovací proces značně jednodušší (použití již zavedeného léčiva pro jinou indikaci, tzv. „drug repositioning“), než je tomu v případě nové látky. Nabízí se také nový terapeutický protokol, ve kterém by mohly být KG kombinovány s již používanými protinádorovými léčivy anebo imunoterapeutiky, což by mohlo významně zvýšit dobu přežití pacientů s nádorovými onemocněními. Studium KG jako potenciálních léčiv má ze všech těchto důvodů stále větší význam.

Publikace byla připravená díky podpoře grantů OPPC CZ.2.16/3.1.00/24503, NPU I LO1601.

Seznam zkratk

Akt	proteinkinasa B
BCRP	protein rezistence rakoviny prsu
Dg	digoxin
Dgt	digitoxin
Dp21MaT	malonyl-koenzym A:21-hydroxypregnan-21- -O-malonyltransferasa
FAK	fokální adhezivní kinasa
hERG	draselný kanál
HIF-1 α	hypoxii indukovaný faktor 1 α
HMGB1	protein kódovaný genem <i>HMGB1</i>
KG	kardioglykosidy
MAPK	mitogenem aktivované proteinkinasy
mTOR	savčí cíl rapamycinu
Nf2	jaderný faktor 2 příbuzný erythroidu 2
NF- κ B	nukleární faktor kappa B
NKA	Na ⁺ /K ⁺ -ATPasa
Pgp	P-glykoprotein
TNF- α	faktor nádorové nekrózy α
UPR	odpověď na nesbalené proteiny
VRAC	objemem regulované aniontové kanály

LITERATURA

- Mahdi J. G.: *Biotechnol. Rep. (Amst.)* 4, 73 (2014).
- Sharma A. K., Nareda M., Aziz S., Sharma D., Garg S. K.: *J. Dev. Drugs* 5, 3 (2016).
- Fauzee N. J.: *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 12, 837 (2011).
- Achan J., Talisuna A. O., Erhart A., Yeka A., Tibenderana J. K., Baliraine F. N., Rosenthal P. J., D'Alessandro U.: *Malar. J.* 10, 144 (2011).
- Withering W.: *An Account of the Foxglove, and some of its Medical Uses: With Practical Remarks on Dropsy, and Other Diseases.* Birmingham: Printed by M. Swinney, London 1785.
- Fuentes A. V., Pineda M. D., Venkata K. C. N.: *Pharmacy (Basel)* 6, 43 (2018).
- <https://opendata.sukl.cz/?q=katalog/dodavky-lecivych-pripravku>, staženo 4. 4. 2020.
- Verma S. K., Das A. K., Cingoz G. S., Gurel E.: *Ind. Crops Prod.* 94, 20 (2016).
- Zalucki M. P., Brower L. P., Alonso-Meíia A.: *Ecol. Entomol.* 26, 212 (2001).
- Dobler S., Petschenka G., Wagschal V., Flacht L.: *Entomol. Exp. Appl.* 157, 30 (2015).
- Pérez-Alonso N., Wilken D., Gerth A., Jähn A., Nitzsche H. M., Kerns G., Capote-Perez A., Jiménez E.: *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 99, 151 (2009).
- Moore W. N., Taylor L. T.: *Phytochem. Anal.* 8, 238 (1998).
- Hammerstein F., Kaiser F.: *Planta Med.* 21, 5 (1972).
- Chiarlo B., Cajelli E., Gastaldo P., Profumo P.: *Chromatographia* 11, 229 (1978).
- Tor E. R., Holstege D. M., Galey F. D.: *J. Agric. Food Chem.* 44, 2716 (1996).
- Hembree J. A., Chang C. J., McLaughlin J. L., Peck G., Cassady J. M.: *J. Nat. Prod.* 42, 293 (1979).
- Steyn P. S., van Heerden F. R.: *Nat. Prod. Rep.* 15, 397 (1998).
- Qiong M., Lee-Fong Y., Jing-Guang L., Zhen-Zhen W., Bao-Xian Z., Jing-Rong W., Zhi-Hong J.: *J. Ethnopharmacol.* 187, 74 (2016).
- Keppel M. H. a 16 spoluautorů: *PLoS One* 14, e0212973 (2019).
- Hamlyn J. M., Blaustein M. P., Bova S., DuCharme D. W., Harris D. W., Mandel F., Mathews W. R., Ludens J. H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 6259 (1991).
- el-Masri M. A., Clark B. J., Qazzaz H. M., Valdes R.: *Clin. Chem.* 48, 1720 (2002).
- Li J. H., Pan H., Wu Z. P., Chen Y. L., Chu X. M., Lin S. S.: *Zhongguo Yaoli Xuebao* 16, 47 (1995).
- Gusdon J. P., Buckalew V. M., Hennessy J. F.: *Am. J. Obstet. Gynecol.* 150, 83 (1984).
- Dasgupta A., Trejo O.: *Am. J. Clin. Pathol.* 111, 406 (1999).
- Kelman A. W., Sumner D. J., Lonsdale M., Lawrence J. R., Whiting B.: *Br. J. Clin. Pharmacol.* 10, 135 (1980).
- Manunta P., Hamilton B. P., Hamlyn J. M.: *Hypertension* 37, 472 (2001).
- Magpusao A. N., Omolloh G., Johnson J., Gascón J., Peczu M. W., Fenteany G.: *ACS Chem. Biol.* 10, 561 (2015).
- Iyer A. K., Zhou M., Azad N., Elbaz H., Wang L., Rogalsky D. K., Rojanasakul Y., O'Doherty G. A., Langenhan J. M.: *ACS Med. Chem. Lett.* 1, 326 (2010).
- Wang H. Y. L., Xin W., Zhou M., Stueckle T. A., Rojanasakul Y., O'Doherty G. A.: *ACS Med. Chem. Lett.* 2, 73 (2011).
- Lindemann P., Luckner M.: *Phytochemistry* 46, 507 (1997).

31. Thorn A., Egerer-Sieber C., Jäger C. M., Herl V., Müller-Uri F., Kreis W., Muller Y. A.: *J. Biol. Chem.* 283, 17260 (2008).
32. Kuate S. P., Pádua R. M., Eisenbeiss W. F., Kreis W.: *Phytochemistry* 69, 619 (2008).
33. Pádua R. M., Meitinger N., Hennemann M., Schebitz P., Waibel R., Löber S., Gmeiner P., Clark T., Kreis W.: *Tetrahedron* 72, 4556 (2016).
34. Diettrich B., Aster U., Greidziak N., Roos W., Luckner M.: *Biochem. Physiol. Pflanz.* 182, 245 (1987).
35. Theurer C., Treumann H. J., Faust T., May U., Kreis W.: *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 38, 327 (1994).
36. El-Sayed E. R., Ahmed A. S., Abdelhakim H. K.: *J. Appl. Microbiol.* 128, 747 (2020).
37. Verma S. K., Gantait S., Jeong B. R., Hwang S. J.: *Sci. Rep.* 8, 18009 (2018).
38. Pérez-Alonso N., Capote A., Gerth A., Jiménez E.: *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 110, 153 (2012).
39. Paranhos A., Fernández-Tárrago J., Corchete P.: *New Phytol.* 141, 51 (1999).
40. Reuter H., Henderson S. A., Han T., Ross R. S., Goldhaber J. I., Philipson K. D.: *Circ. Res.* 90, 305 (2002).
41. Liu T., Brown D. A., O'Rourke B.: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 49, 728 (2010).
42. Pan L., Zhang Y., Zhao W., Zhou X., Wang C., Deng F.: *Cancer Chemother. Pharmacol.* 80, 91 (2017).
43. Haas M., Wang H., Tian J., Xie Z.: *J. Biol. Chem.* 277, 18694 (2002).
45. Kometiani P., Liu L., Askari A.: *Mol. Pharmacol.* 67, 929 (2005).
46. Zhang D., Zhang P., Yang P., He Y., Wang X., Yang Y., Zhu H., Xu N., Liang S.: *Clin. Proteomics* 14, 15 (2017).
47. Li Z., Zhang Z., Xie J. X., Li X., Tian J., Cai T., Cui H., Ding H., Shapiro J. I., Xie Z.: *J. Biol. Chem.* 286, 32394 (2011).
48. Furlong I. J., Ascaso R., Lopez Rivas A., Collins M. K.: *J. Cell Sci.* 110, 653 (1997).
49. Rich I. N., Worthington-White D., Garden O. A., Musk P.: *Blood* 95, 1427 (2000).
50. Sergeeva T. F., Shirmanova M. V., Zlobovskaya O. A., Gavrina A. I., Dudenkova V. V., Lukina M. M., Lukyanov K. A., Zagaynova E. V.: *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Res.* 1864, 604 (2017).
51. Yang Q. a 11 spoluautorů: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 9631 (2005).
52. Bielawski K., Winnicka K., Bielawska A.: *Biol. Pharm. Bull.* 29, 1493 (2006).
53. Zhang H. a 12 spoluautorů: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 19579 (2008).
54. Fujii T., Shimizu T., Yamamoto S., Funayama K., Fujita K., Tabuchi Y., Ikari A., Takeshima H., Sakai H.: *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Basis Dis.* 1864, 3792 (2018).
55. Wong R. W., Lingwood C. A., Ostrowski M. A., Cabral T., Cochrane A.: *Sci. Rep.* 16, 850 (2018).
56. Kapoor A., Cai H., Forman M., He R., Shamay M., Arav-Boger R.: *Antimicrob. Agents Chemother.* 56, 4891 (2012).
57. Kaushik V., Yakisich J. S., Azad N., Kulkarni Y., Venkatadri R., Wright C., Rojanasakul Y., Iyer A. K. V.: *J. Cell Physiol.* 232, 2497 (2017).
58. Yakisich J. S., Azad N., Venkatadri R., Kulkarni Y., Wright C., Kaushik V., O'Doherty G. A., Iyer A. K. V.: *Oncol. Rep.* 35, 878 (2016).
59. Feng Q., Leong W. S., Liu L., Chan W. I.: *Molecules* 21, 534 (2016).
60. Wang T., Zhuang Z., Zhang P., Wang Y., Mu L., Jin H., Zhou L., Ma X., Liang R., Yuan Y.: *Oncol. Lett.* 14, 4971 (2017).
61. Ahern T. P., Tamimi R. M., Rosner B. A., Hankinson S. E.: *Breast Cancer Res. Treat.* 144, 427 (2014).
62. Karasneh R. A., Murray L. J., Mc Menamin Ú. C., Hughes C. M., Cardwell C. R.: *Breast Cancer Res. Treat.* 151, 661 (2015).
63. Karasneh R. A., Murray L. J., Hughes C. M., Cardwell C. R.: *Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev.* 24, 1804 (2015).
64. Wright J. L., Hansten P. D., Stanford J. L.: *Prostate* 74, 97 (2014).
65. López-Lázaro M., Pastor N., Azrak S. S., Ayuso M. J., Austin C. A., Cortés F.: *J. Nat. Prod.* 68, 1642 (2005).
66. Trenti A., Zulato E., Pasqualini L., Indraccolo S., Bolego C., Trevisi L.: *Br. J. Pharmacol.* 174, 3094 (2017).
67. Yang Q. F., Dalgard C. L., Eidelman O., Jozwik C., Pollard B. S., Srivastava M., Pollard H. B.: *J. Carcinog.* 20, 8 (2013).
68. Sáez P. J., Vargas P., Shoji K. F., Harcha P. A., Lennon-Duménil A. M., Sáez J. C.: *Sci. Signaling* 10, eaah7107 (2017).
69. Menger L. a 20 spoluautorů: *Sci. Transl. Med.* 4, 143ra99 (2012).
70. Obeid M., Panaretakis T., Tesniere A., Joza N., Tufi R., Apetoh L., Ghiringhelli F., Zitvogel L., Kroemer G.: *Cancer Res.* 67, 7941 (2007).
71. Fu C., Jiang A.: *Front. Immunol.* 9, 3059 (2018).
72. <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=cancer&term=digoxin&cntry=&state=&city=&dist=, staženo 11. 1. 2019>.
73. Zhang X. H., Wang X. Y., Zhou Z. W., Bai H., Shi L., Yang Y. X., Zhou S. F., Zhang X. C.: *Biofactors* 43, 812 (2017).
74. Deng K. a 12 spoluautorů: *Cancer Biol. Ther.* 20, 52 (2019).
75. Zhou Y., Zhou Y., Yang M., Wang K., Liu Y., Zhang M., Yang Y., Jin C., Wang R., Hu R.: *Redox. Biol.* 22, 101131 (2019).
76. Felth J., Rickardson L., Rosén J., Wickström M., Fryknäs M., Lindskog M., Bohlin L., Gullbo J.: *J. Nat. Prod.* 72, 1969 (2009).
77. Peterková L., Rimpelová S., Kmoníčková E., Ruml T.: *Chem. Listy* 113, 149 (2019).

78. Einbond L. S., Wu H. A., Sandu C., Ford M., Mighty J., Antonetti V., Redenti S., Ma H.: *Fitoterapia* 109, 146 (2016).
79. Xiao Y. a 10 spoluautorů: *Mol. Med. Rep.* 15, 941 (2017).

J. Bejček^a, V. Spiwok^a, E. Kmoníčková^b, T. Ruml^a, and S. Rimpelová^a (^a *Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology, Prague,* ^b *Institute of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen*): **Cardiac Glycosides: On their Therapeutic Potential for Cancer Treatment**

Cardiac glycosides are bioactive natural compounds well-known mainly for their potency to induce a cardio-tonic effect by sodium-potassium ATPase inhibition. For many years, cardiac glycosides have been utilized to treat

heart failure and arrhythmias; however, according to novel research studies, these compounds have an enormous potential also as medicinally promising compounds for cancer treatment. The goal of this review is to provide a brief insight into the research topic of cardiac glycosides by describing their chemical structure, biosynthesis, the mechanism of action, anticancer potential alongside with the most significant clinical trials, as well as their other biological activities, such as the modulation of the immune system.

Keywords: digoxin, digitoxin, cardiac glycosides, ouabain, anticancer activity, natural compounds, sodium-potassium pump (Na⁺/K⁺-ATPase)

Acknowledgements

The authors are to grateful to financial support by the following grants: OPPC CZ.2.16/3.1.00/24503, NPU I LO1601.

RASTLINNÉ TOXÍNY V EXOTICKÝCH MEDOCH – „ŠIALENOM“ MEDE A „TUTÍNOVOM“ MEDE

KATARÍNA KROMEROVÁ^{a,b} a VLADIMÍR BENCKO^a

^a Ústav hygieny a epidemiologie, 1. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Studničkova 7, 128 00, Praha 2 a Všeobecná fakultní nemocnice, U Nemocnice 499/2, 128 08 Praha, ^b Odbor bezpečnosti potravin a výživy, Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky, Dobrovičova 12, 812 66 Bratislava
katarina.kromerova@land.gov.sk

Došlo 6.1.20, prijaté 8.7.20.

Kľúčové slová: med, „šialený“ med, cudzorodé látky, rastlinné toxíny, grayanotoxíny, tutín, zdravotné riziká

Obsah

1. Úvod
2. „Šialený“ med – med obsahujúci grayanotoxíny (GTX)
3. Grayanotoxíny (GTX)
4. Účinky grayanotoxínov (GTX) po konzumácii „šialeného“ medu
5. Účinky grayanotoxínov (GTX) po konzumácii iných potravín
6. „Tutínový“ med – med obsahujúci toxín tutín
7. Tutín
8. Účinky tutínu po konzumácii „tutínového“ medu
9. Záver

1. Úvod

Med je prírodná sladká látka produkovaná včelami medonosnými (*Apis mellifera*) z nektáru rastlín, zo sekrétov živých častí rastlín, alebo z výlučkov hmyzu cucajúceho živé časti rastlín, ktorý včely zberajú, pretvárajú a obohacujú vlastnými špecifickými látkami, ukladajú, zahusťujú, uskladňujú a ponechávajú v plástoch aby dozrel a vyzrel¹.

Med je najstaršie známe sladidlo a bol a je stále používaný taktiež pre predpokladané liečebné účinky². Existuje množstvo informácií o výživových a liečivých vlastnostiach medu. Avšak med môže obsahovať zlúčeniny, ktoré môžu viesť k jeho toxicite³.

Rastlinné toxíny alebo fytotoxíny sú sekundárne rastlinné metabolity, ktoré vykazujú akútnu alebo chronickú toxicitu alebo majú anti-nutričné účinky. Môžu pôsobiť ako chemická obrana s cieľom ochrany rastlín

proti bylinožravcom, baktériám a hubám⁴. Rastliny obsahujúce sekundárne metabolity, ako sú pyrolizidínové alkaloidy, grayanotoxíny (GTX), hyoscyamín, hyoscín, strychnín, gelsemín, tutín, hyenanchín, oleandrín a oleandrigenín, majú toxické vlastnosti³. Živenie sa včiel na kvetoch toxických rastlín môže mať za následok kontamináciu medu⁴.

2. „Šialený“ med – med obsahujúci GTX

Zloženie medu veľmi závisí od kvetov navštívených včelami a poveternostných podmienok v oblasti, z ktorej sa zozbiera med.

Med získaný z nektáru rastlín z rodiny *Rhododendron* je známy ako „šialený“ med alebo „horký“ med v Turecku⁵. V tureckom čiernomorskom regióne je rododendrónový med dostupný na miestnych trhoch v surovej forme bez akéhokoľvek spracovania a je známy ako „delibal“ alebo „šialený med“ kvôli svojim intoxikačným vlastnostiam a tiež ako „horký med“ kvôli jeho mierne ostrej chuti⁶. Med bol v minulosti v gréčtine nazývaný „maenomeno“, „miraculum mellisa“ alebo „zázračný med“⁷. Súčasní Gréci ho nazývajú v pontickom dialekte „zanton“ alebo „palalon“, čo znamená „šialený“⁸.

Kvety rodu *Rhododendron* sú široko rozšírené v krajinách ako Španielsko, Portugalsko, Japonsko, Brazília, Spojené štáty, Nepál, Veľká Británia a najmä Turecko. Rod *Rhododendron* obsahuje viac ako 750 druhov rastlín, z ktorých väčšina, aj keď nie všetky, obsahuje toxíny (napr. GTX). V Turecku bolo nájdených päť druhov, vrátane *R. ponticum* (fialový kvet), *R. luteum* (žltý kvet), *R. unguernii* (biely kvet), *R. smirnovii* (ružový kvet) a *R. caucasicum* (kavkazský rododendron) a ich 12 taxónov a tieto môžu rásť od hladiny mora do výšky približne 3200 m.

GTX sú tvorené rastlinnou čeľad'ou *Ericaceae*, rodmi *Rhododendron*, *Pieris* (*Andromeda*), *Leucothoe*, *Craibiodendron*, *Lyonia* alebo *Kalmia*. GTX je druh neurotoxínu získaný z rastlín, ktorý včely nevedia detoxikovať a priamo sa dostáva do medu, čoho výsledkom sú intoxikácie⁹. Vďaka včelárstvu v regiónoch, kde rastú druhy produkujúce GTX, med môže byť kontaminovaný a jeho požitie môže mať za následok akútne toxické účinky¹⁰. Pretože väčšina miestnych včelárov vyrába med v malom rozsahu, konečné produkty môžu pochádzať z oblastí husto pokrytých rastlinami čeľade *Ericaceae* a môžu tak obsahovať značné koncentrácie GTX (cit.⁶).

3. Grayanotoxíny (GTX)

Tieto toxíny bez dusíka sú polyhydroxylované cyklické diterpény tiež známe ako andromedotoxín, acetyl-andromedol a rhodotoxín⁵. Sú to sekundárne metabolity s tetracyklickou A-nor-B-homo-ent-kauránovou kostrou zvanou grayanán, grayanotoxan, asebotoxín alebo andromedán, čo je polyhydroxylovaný cyklický uhľovodík s 5/7/6/5 kruhovou štruktúrou (obr. 1)¹⁰.

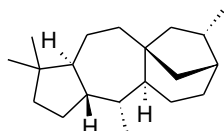
Bolo izolovaných viac ako 25 GTX izoformiem z rastlín rodu *Rhododendron*. Zatiaľ čo GTX-I a GTX-II sa v nich nachádzajú v menších množstvách, GTX-III izoforma je hlavný toxín v „šialenom“ mede.

V Turecku produkujú GTX len *R. ponticum* a *R. luteum*⁵. Množstvo GTX v „šialenom“ mede môžu ovplyvniť rôzne faktory a môže sa líšiť v závislosti od čistoty medu (jeho monoflorálna vlastnosť), geografických podmienok v príslušnom regióne a od toho, či bol/nebol med spracovaný¹¹. Distribúcia GTX v mede nie je homogénna a nie je ľahké určiť presne množstvo GTX, ktorému bol jedinec exponovaný⁷.

Kvôli toxickým účinkom sa štúdie sústredili na určovanie a charakterizáciu množstva GTX vo vzorkách rastlín a medov. Kvapalinová chromatografia – hmotnostná spektrometria (LC-MS/MS) za posledných 20 rokov a nedávno time-of-flight LC-MS/MS umožnili určiť GTX z biologických materiálov (listy, kvety a med). Holstege a spol.¹¹ vyvinuli pre LC-MS/MS rýchlu metódu kvantitatívneho stanovenia GTX-I, GTX-II a GTX-III v biologických vzorkách, vrátane obsahu čriev, stolice a moču. Túto citlivú techniku je tiež možné použiť pre toxikológiu a súvisiace laboratórne vyšetrenie¹².

4. Účinky grayanotoxínov (GTX) po konzumácii „šialeného“ medu

Med obsahujúci grayanotoxín, nazývaný „šialený“ med, môže spôsobiť dramatické účinky pri požití, ako to zaznamenal už grécky bojovník Xenophon v roku 401 pred n.l. v jeho *Anabasis* „... ale v okolí boli početné roje včiel a všetci vojaci, ktorí jedli z medu, stratili hlavu, vracali, mali hnačku a ani jeden z nich by sa nemohol postaviť, ale tí, čo jedli len trochu, boli ako opití, zatiaľ čo tí, ktorí si zajedli veľa, sa zdali ako šialení, alebo dokonca v niektorých prípadoch ako na pokraji smrti. Takže tam ležali vo veľkom počte, akoby armáda utrpela porážku a vládlo veľké sklamanie. Nasledujúci deň ale nikto nezomrel a približne v rovnakú hodinu, ako keď jedli med,

Obr. 1. Grayanotoxán¹⁰

Viz poznámka na str. 15.

začali prichádzať ku zmyslom; a na tretí alebo štvrtý deň vstali ako po požití drogy“⁶. Strabón tiež spomínal porážku, ktorú utrpeli Pompeiovi vojaci po konzumácii medu z toxických plástov, zámerne zanechaných pontskými armádami počas tretej mithridatickej vojny v roku 67 pred n.l. Existujú tiež hypotézy, že „šialený“ med bol účinnou látkou lektvaru, ktorý inšpiroval orákula v Delfách a tiež Menády, ženské nástupkyne Dionýza, ktoré zmenil Euripides¹³.

Intoxikácia „šialeným“ medom bola zaznamenaná v mnohých krajinách po celom svete, vrátane Turecka, Číny, Filipín, Kórey, Indonézie, Japonska, Nepálu, Rakúska, Nemecka, Brazílie a niektorých štátov severnej Ameriky, ale väčšina prípadov sa uvádza okrem Turecka v Ázii¹⁴.

„Šialený“ med sa vo všeobecnosti konzumuje ako potravina, ale používa sa aj ako alternatívna liečba¹⁵. Rododendronový med sa v ľudovom liečiteľstve tradične používa najmä ako sexuálny stimulátor, proti vysokému krvnému tlaku a vysokej hladine glukózy v krvi. Vzhľadom na veľké použitie tohto medu v ľudovom liečiteľstve v krajine, intoxikácia s prejavmi, ako sú závraty, zvracanie, nevoľnosť, slabosť a rozmazané videnie, nie je v Turecku neobvyklým problémom⁷.

Alimentárne otravy sú bežným problémom pre konzumentov „šialeného“ medu kvôli prítomnosti grayanotoxínov GTX. Avšak účinky jednotlivých toxínov u ľudí nie sú známe. Aktuálne poznatky o relatívnej toxicite rôznych toxínov sú obmedzené a informácie sú odvodené len z niekoľkých pokusov na zvieratách¹⁰. GTX má akútne toxické účinky a vzťah dávky a účinku niektorých z GTX bol intenzívne skúmaný u myši⁸. Škodlivé účinky GTX sú výsledkom ich väzby na sodíkové kanály excitabilných membrán a následnej inaktívácie ich akčného potenciálu. To vedie k nepretržitej depolarizácii a zvýšeniu influxu vápnikového kationu. Najvýraznejšie symptómy boli nauzea, hypotenzia, bradykardia a poruchy vedomia⁸. Príznaky sa môžu vyskytnúť do 10 minút alebo oneskorene až o 4 hodiny (cit.¹⁶). Príznaky môžu trvať od niekoľkých hodín do niekoľkých dní, v závislosti od závažnosti intoxikácie¹². Závažnosť a priebeh klinických príznakov sa líšia v závislosti od citlivosti konzumentov na toxín¹⁴. Nebola zistená žiadna asociácia medzi hladinami GTX v krvi a klinickými údajmi¹². Na základe vyhodnotenia 1199 prípadov otravy po konzumácii „šialeného“ medu konzumácia 1–5 lyžíc „šialeného“ medu zvyčajne spôsobuje intoxikáciu⁷. Závažná otrava „šialeným“ medom môže byť smrteľná, ak sa nelieči. Žiadne smrteľné prípady neboli hlásené od času lekárskeho vymedzenia tejto formy otravy v roku 1983. Dva smrteľné prípady, týkajúce sa ruských vojakov, ktorí konzumovali veľké množstvo medu, boli zdokumentované v období prvej svetovej vojny⁸, kým zopár ďalších prípadov bolo zaznamenaných v oblastiach Kastamonu a Kocaeli v Turecku na začiatku 40. rokov 20. storočia⁸.

Po vyhodnotení prípadov otravy po konzumácii „šialeného“ medu medzi rokmi 1981 a 2014, t.j. približne za obdobie 34 rokov sa zistilo, že prípady otravy boli

hlásené častejšie u mužov (75,17 %) a vo veku od 41 do 65 rokov⁷. Najčastejšie príznaky spojené s otravou medom boli závraty (51,58 %), bradykardia (49,92 %), nauzea (37,58 %), vracanie (35,50 %), presynkopa (27,33 %), rozmazané videnie (20,42 %), nasledovala hypotenzia, synkopa, mdloby a iné a nálezy EKG boli: sínusová bradykardia (79,58 %), úplný atrioventrikulárny blok (45,83 %), atrioventrikulárny blok (30,91 %), elevácia segmentu ST (22,63 %) a nodálny rytmus (11,27 %). Na základe vyhodnotenia 1199 prípadov sa zistilo, že neboli hlásené žiadne úmrtia. Pacienti boli obvykle prepustení do 24 hodín po zotavení⁷.

Zdá sa, že intoxikácie medom sú najmä v regiónoch, kde sú rastliny s príslušnými toxínmi husto pestované a med sa vyrába v malom rozsahu bez akéhokoľvek ďalšieho riedenia s medom z iných produkčných oblastí¹⁰. Ako ľudia zvyšujú používanie „prírodných“ výrobkov, prípady intoxikácie „šialeným“ medom možno pozorovať častejšie ako predtým v neendemických oblastiach. Preto by mali lekári myslieť na možnosť konzumácie „šialeného“ medu v prípadoch náhlej nevysvetlenej hypotenzie a bradyarytmie u predtým zdravých pacientov¹⁶.

5. Účinky grayanotoxínov (GTX) po konzumácii iných potravín

Okrem toho je potrebné mať na pamäti, že historicky bolo veľa prípadov intoxikácie GTX po konzumácii potravín získaných z rododendronu, a to nielen „šialeného“ medu, ale aj surového rododendronového listu a výťažkov z neho. V Kórei sa nazýva „Rododendronový likér“, a stále sa pripravuje a masovo konzumuje¹⁷.

6. „Tutínový“ med – med obsahujúci toxín tutín

Najznámejšie sú 2 otravy medom: otrava „šialeným medom“, popísaná napr. v Turecku, Nepále a Kórei a otrava „tutínovým“ medom opísaná v časti Nového Zélandu¹⁸. Kým otravu „šialeným“ medom spôsobujú GTX z toxických druhov *Rhododendronu*, otravu „tutínovým“ medom spôsobuje neurotoxín tutín z kríku rodu *Coriaria*¹⁸.

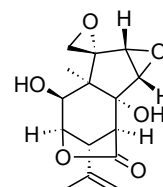
„Tutu“ je pôvodný ker alebo malý strom, ktorý je bežný na celom Novom Zélande. Všetky časti rastliny sú toxické okrem okvetných lístkov okolo semien¹⁹. Analýzy piatich druhov *Coriaria* na Novom Zélande ukázali, že koncentrácie tutínu boli väčšie v listoch ako v stonkách. Štúdie na zvieratách ukázali, že mladé listy tutu boli viac toxické ako zrelé listy a že stonky, koreňový obal a jadro koreňa neboli pri maximálnej testovanej dávke toxické²⁰. Prenos tutínu do medu bol zaznamenaný len tam, kde sa vyskytuje hmyz *Scolypopa australis* (passion vine hopper alebo „čipkované krídlo“). Tento škodca saje šťavu z mladých zelených výhonkov. Keď sa živí na „tutu“ rastlinách, lepkavé črevné sekréty („medovica“), ktoré

vylučuje, obsahujú tutín. Vyskytuje sa iba v teplých oblastiach, čo vysvetľuje, prečo boli otravy medom opísané iba v teplejších častiach Nového Zélandu (najmä v severnej polovici Severného ostrova a v regióne Marlborough), aj keď „tutu“ rastlina rastie v celej krajine¹⁹.

V niektorých oblastiach North Island je teraz produkcia medu zakázaná a v iných oblastiach Nového Zélandu sa odporúča včelárom nezberať med v určitých obdobiach roka, kedy sa vyskytujú *Scolypopa australis*.

7. Tutín

Tutín (obr. 2)¹⁹ patrí medzi pikrotoxíny a ovplyvňuje cicavce. Zdá sa, že nemá vplyv na včely³. Ukázalo sa, že hmyz používa glykozyláciu ako detoxikačný mechanizmus a ako metódu, ktorá zabraňuje, aby ich medovica vyvolávala ochrannú reakciu rastlín. Tutín je rastlinného pôvodu, nepochádza z hmyzu²⁰. Tutín nedegraduje ohrevom alebo pri spracovaní medu. Tutín sa považuje za veľmi stabilný a má závažný vplyv na ľudský nervový systém³.



Obr. 2. Molekulárna štruktúra tutínu¹⁹

8. Účinky tutínu po konzumácii „tutínového“ medu

Klinické prezentácie a výsledky otravy medom závisia od toxických látok v mede. Úmrtia boli hlásené medzi Maormi a osadníkmi na novozélandskom North Island³. Otravy nekončiace smrťou boli rozšírené na Novom Zélande až do dvadsiateho storočia, kedy bola produkcia medu na North Island zastavená. Ako zdroj otravy bola identifikovaná kombinácia rastliny *Coriaria arborea* („tutu“) a produkcie medovice zo *Scolypopa australis*³.

Typickou črtou otravy medom obsahujúcim tutín je veľká variabilita v čase nástupu príznakov a symptómov toxicity²¹. Začiatok klinických príznakov sa pohybuje od 0,5 do 17 hodín s mediánom 7,5 h. Bežne boli pozorované nevoľnosť a zvracanie a v niektorých prípadoch záchvaty. Spotrebované množstvo sa pohybovalo od nepatrného množstva po 200 g medu¹⁸. Závažnejšie klinické príznaky a príznaky toxicity sú často oneskorené po akútnej expozícii²⁰. Po charakteristickom oneskorení od troch po šesť hodín nastupuje nevoľnosť a zvracanie, za ktorými často nasleduje tras a/alebo veľké záchvaty, ktoré môžu byť závažné a opakujúce sa. Nevoľnosť a zvracanie môže

pretrvávajú veľa hodín. Iné prejavy zahŕňajú tachykardiu, tachypnoe, ťažkosti s dýchaním, delírium, rozmazané videnie, úzkosť, vzrušenie, slabosť, závraty, amnéziu, stupor a kómu. Smrť nastane zvyčajne v dôsledku zástavy dýchania¹⁹.

9. Záver

Napriek nespochybniteľným výživovým a zdravotným prospešným vlastnostiam medu, ktoré sú všeobecne známe, je potrebné mať na zreteli aj aspekt zdravotnej bezpečnosti z hľadiska potenciálnej prítomnosti kontaminantov, konkrétne rastlinných toxínov. Živenie včiel na kvetoch toxických rastlín môže mať za následok kontamináciu medu rastlinnými toxínmi a následnú humánnu intoxikáciu po jeho požití. Zdá sa, že intoxikácie medom sú najmä v regiónoch, kde sú rastliny s príslušnými toxínmi husto pestované a med sa vyrába v malom rozsahu bez akéhokoľvek ďalšieho riedenia s medom z iných produkčných oblastí. Ako ľudia zvyšujú používanie „prírodných“ výrobkov a rozmáha sa globálny obchod a turizmus do exotických krajín, prípady intoxikácie možno pozorovať častejšie ako predtým v neendemických oblastiach.

Vyhlasenie: Článok je vyjadrením autora ako súkromnej osoby a nejde o oficiálne stanovisko Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky.

Článok vznikol v rámci v rámci aktivít podporovaných výskumným zámerom PROGRES Q29/LF1.

Zoznam skratiek

GSH-Px	glutatiónpoxidáza
GTx	gryanotoxíny
LC-MS/MS	kvapalinová chromatografia – hmotnostná spektrometria
SOD	superoxid dismutáza

LITERATÚRA

- Smernica Rady č. 2001/110/ES z 20. decembra 2001 o mede (príloha I, bod 1). Úradný vestník Európskej únie. L 10, 12.1.2002, s. 47.
- Bencko V., Myrvold E. H., Šíma P.: Prakt. Léč. 97, 195 (2017).
- Islam N., Khalil I., Islam A., Hua Gab S.: J. Appl. Toxicol. 34, 733 (2014).
- Mol H. G. J., Van Dam R. C. J., Zomer P., Mulder P. P. J.: Food Addit. Contam. 28, 1405 (2011).
- Sahin H., Turumtay E. A., Yildiz O., Kolaylı S.: Int. J. Food Prop. 18, 2665 (2015).
- Jansen S. A., Kleerekoper I., Hofman Z. L. M., Kappen I. F. P. M., Stary-Weinzinger A.: Cardiovasc Toxicol. 12, 208 (2012).

- Silici S., Atayoglu A. T.: Food Chem. Toxicol. 86, 282 (2015).
- Harissis H. V., Mavrofridis G.: Archives of Hellenic Medicine 30, 730 (2013).
- Bilir O., Ersunan G., Yavasi O., Kayayurt K., Gökou B., Bostan M.: Biomed. Res. 28, 1528 (2017).
- These A., Bodi D., Uecker S., Reimers K., Ronczka S.: Food Addit. Contam., Part A 32, 1674 (2015).
- Holstege D. M., Puschner B., Le T.: J. Agric. Food Chem. 49, 1648 (2001).
- Aygun A., Sahin A., Karaca Y., Turkmen S., Turedi S., Ahn S. Y., Kim S., Gunduz A.: Turk. J. Emerg. Med. 18, 29 (2018).
- Broscaru L., Dobre C., Rösick F., Halilovic A., Gulba D.: Eur. J. Case Rep. Intern. Med. 5, 000742 (2018).
- Ullah S., Khan S. U., Saleh T. A., Fahad S.: RSC Adv. 8, 18635 (2018).
- Dogan F. S., Ozaydin V., Incealtin O., Guneyssel O., Demireller M.: Turk. J. Emerg. Med. 15, 185 (2015).
- Okuyan E., Uslu A., Levent M. O.: Clin. Toxicol. 48, 528 (2010).
- Choi H. L., Park K. H., Park J. S., Choi H. Y., Kim H., Kim S. M.: Clin. Toxicol. 55, 991 (2017).
- Zhang Q., Chen X., Chen S., Ye Y., Luo J., Li J., Yu S., Liu H., Liu Z.: Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 48, 189 (2017).
- Beasley M., Hood D., Anderson P., Reeve J., Slaughter R. J.: N. Z. Med. J. 131, 59 (2018).
- Watkins O. C., Joyce N. I., Gould N., Perry N. B.: J. Nat. Prod. 81, 1116 (2018).
- Fields B. A., Reeve J., Bartholomaeus A., Mueller U.: Food Chem. Toxicol. 72, 234 (2014).

K. Kromerová^{a,b} and V. Bencko^a (^a Institute of Hygiene and Epidemiology, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic and General University Hospital, Prague, Czech Republic, ^b Department of Food Safety and Nutrition, Ministry of Agriculture and Rural Development of the Slovak Republic, Bratislava, Slovak Republic): **Plant Toxins in Honey of Exotic Origin – "Mad" Honey and "Tutin" Honey**

There is a lot of information about the nutritional and medicinal properties of honey. However, honey may contain compounds that can lead to its toxicity. The composition of honey depends very much on the flowers visited by bees and the weather conditions in the honey harvesting area. Phytotoxins are secondary plant metabolites that show acute or chronic toxicity or have anti-nutritional effects. Bees feeding on the flowers of toxic plants can result in contamination of honey. The two best-known poisonings by honey of exotic origin are those by the so called "mad" honey, described for example in Turkey, Nepal and Korea, caused by the grayanotoxins produced by the plant family *Ericaceae*, the genera *Rhododendron*, *Pieris* (*Andromeda*), *Leucothoe*, *Craibiodendron*, *Lyonia* or *Kalmi*, and the "tutin" honey poisoning described in

a part of New Zealand caused by the neurotoxin tutin from shrubs in the genus *Coriaria*. This is primarily the case of endemic areas, but given the widespread use of natural products, global trade and tourism, it is necessary to take into account the potential risk of not only allergic but also toxic manifestations after ingestion of honey of exotic origin.

Keywords: honey, "mad" honey, xenobiotics, plant toxins, grayanotoxins, tutin, health risks

Acknowledgements

The article was created within the framework of activities supported by the research plan PROGRES Q29 / LF1.

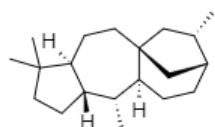
ERRATA

RASTLINNÉ TOXÍNY V EXOTICKÝCH MEDOCH – „ŠIALENOM“ MEDE A „TUTÍNOVOM“ MEDE

K. KROMEROVÁ, V. BENCKO

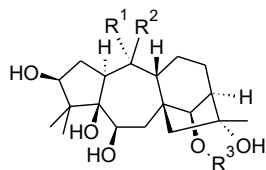
Chem. Listy 115, 20 (2021).

V práci byl zveřejněn vzorec:



pod názvem Grayanotoxan, což je pouze základní uhlovodíková struktura grayanotoxinu.

Správně mělo být:



Grayanotoxin	R ¹	R ²	R ³
Grayanotoxin I	OH	CH ₃	Ac
Grayanotoxin II		CH ₂	H
Grayanotoxin III	OH	CH ₃	H
Grayanotoxin IV		CH ₂	Ac

ARYL-7-DEAZAPURINOVÉ NUKLEOSIDY A JEJICH BIOLOGICKÁ AKTIVITA

PAVLA PERLÍKOVÁ*

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.,
Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
perlíkova@uochb.cas.cz

Došlo 22.10.20, přijato 4.11.20.

Klíčová slova: nukleosid, 7-deazapurin, cytotoxicita, adenosinkinasa

Obsah

1. Úvod
2. Syntéza aryl-7-deazapurinových nukleosidů
3. Aryl-7-deazapurinové nukleosidy s cytotoxickou aktivitou
 - 3.1. 6-Aryl-7-deazapurinové nukleosidy
 - 3.2. 7-Aryl-7-deazapurinové nukleosidy
4. Aryl-7-deazapurinové nukleosidy jako inhibitory mykobakteriální adenosinkinasy
5. Závěr

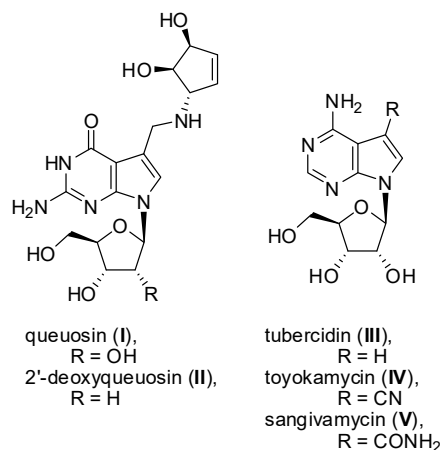
1. Úvod

Nukleosidy přitahují pozornost medicínálních chemiků již po mnoho desetiletí. Přírodní nukleosidy a nukleotidy jsou stavebními kameny nukleových kyselin, účastní se energetického metabolismu a podílí se na buněčné signalizaci. Jejich syntetické analogy proto našly uplatnění jako léčiva s protivirovým a protinádorovým účinkem¹.

7-Deazapurinové nukleosidy jsou strukturně blízké běžným purinovým nukleosidům. 7-Deazapurin se od purinu odlišuje pouze záměnou dusíku v poloze 7 za uhlík. Díky této záměně je však pětičlenný kruh 7-deazapurinu oproti purinu elektronově bohatší. 7-Deazapurin se proto může snadněji zapojit do kation- π a π - π interakcí. Uhlík v poloze 7 navíc umožňuje zavedení dalšího substituentu do této polohy, čehož se často využívá např. při enzymatické přípravě modifikovaných RNA² a DNA³, kde jsou 7-fenyl-7-deazapurinové 2'-deoxynukleotidy dokonce lepšími substráty pro DNA polymerasy než přirozené purinové nukleotidy^{4,5}. Vzhledem k podobnosti purinových a 7-deazapurinových nukleosidů, která se projevuje i na

jejich biologické aktivitě, bude v tomto referátu používáno označení 7-deazapurin s příslušným číslováním namísto systematického názvu pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin.

V přírodě se vyskytují 7-deazapurinové nukleosidy jako sekundární metabolity prokaryot i eukaryot. Jsou také ve formě nukleotidů queuosinu (**I**)⁶ a 2'-deoxyqueuosinu (**II**)⁷ obsaženy v RNA i DNA organismů (obr. 1). 7-Deazapurinové nukleotidy se také často vyskytují v DNA virů, kde tato modifikace slouží jako ochrana před restrikčními enzymy hostitelských buněk⁸. Nejznámější přírodní 7-deazapurinové nukleotidy s cytotoxickou aktivitou, tubercidin (**III**), toyokamycin (**IV**) a sangivamycin (**V**), byly objeveny v 60. letech 20. století v bakteriálních kulturách rodu *Streptomyces*. Všechny tři nukleosidy jsou silně cytotoxické vůči celé řadě nádorových buněčných linií^{9–12}. Společným rysem jejich mechanismu účinku je fosforylace buněčnými kinasami na příslušné mono-, di- a trifosfáty, které se následně inkorporují do RNA a DNA, čímž omezují jejich funkčnost. Zároveň tyto nukleosidy inhibují některé důležité enzymy. Silná a selektivní inhibice proteinkinasy C sangivamycinem (**V**) je dokonce považována za hlavní mechanismus jeho účinku¹³. I přes své slibné vlastnosti přírodní 7-deazapurinové nukleosidy nikdy nebyly schváleny pro klinické použití, protože jsou značně toxické. Jejich biologická aktivita však vedla medicínální chemiky k vývoji celé řady syntetických analogů. 7-Deazapurinové nukleosidy byly předmětem několika nedávných přehledných článků^{14,15}. Tato práce se zaměřuje na arylované 7-deazapurinové nukleosidy, jímž se autorka



Obr. 1. Struktury přírodních 7-deazapurinových nukleosidů

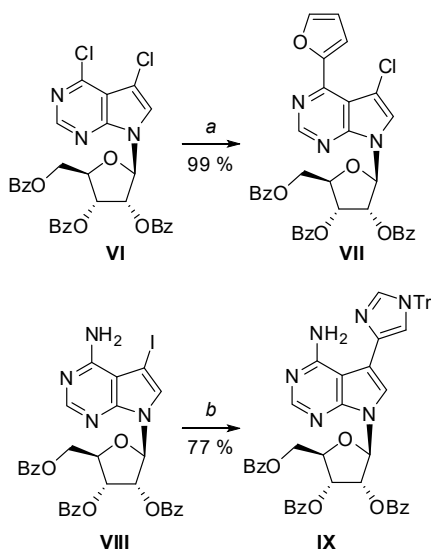
* Autorka je laureátkou ceny Alfreda Badera za bioorganickou a bioanorganickou chemii pro rok 2019.

hlouběji věnuje a shrnuje především výzkum, za který ji byla udělena Cena Alfreda Badera.

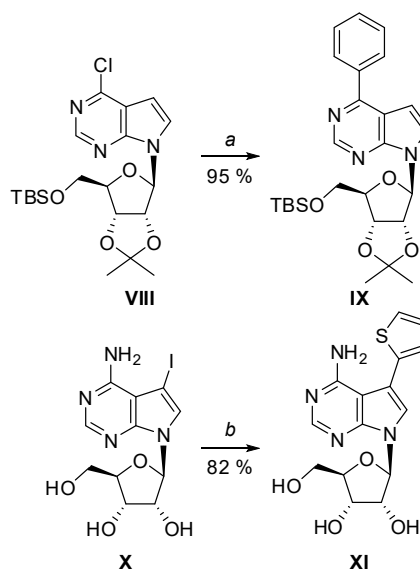
2. Syntéza aryl-7-deazapurinových nukleosidů

Syntéze 7-deazapurinových derivátů se věnovalo v poslední době několik přehledných článků^{14,16}. Možnostmi přípravy 7-deazapurinových nukleosidů glykosylačními reakcemi se dlouhodobě zabývá skupina prof. Franka Seely, která publikovala několik přehledných prací na toto téma^{17–19}. Shrňme proto pouze postupy k zavedení aryl-ové a hetarylové skupiny na nukleobázi 7-deazapurinových nukleosidů.

Nejvíce přímočarou metodou syntézy aryl-7-deazapurinových nukleosidů je cross-couplingová reakce katalyzovaná přechodnými kovy. Výchozími sloučeninami jsou příslušné halogenderiváty – 6-chlor-7-deazapurinové nebo 7-jod- či 7-brom-7-deazapurinové nukleosidy. Pro přípravu aryl-7-deazapurinových nukleosidů je možno použít Stilleho, Negishiho i Suzukiho-Miyaurovu reakci. Výběr se řídí většinou dostupností reaktantů. Stilleho reakce s aryl(tributyl)stannany probíhá za katalýzy $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ v *N,N*-dimethylformamidu (DMF). Tato reakce se nejčastěji používá pro syntézu 2-thienyl- a 2-furylderivátů a poskytuje vysoké výtěžky. Hydroxyskupiny nukleosidu jsou při této reakci většinou chráněny, není to však podmínkou^{9,20,21}. Vzhledem k různým elektronovým poměrům na šesti- a pětičlenném kruhu 7-deazapurinu reaguje u 6,7-dichlor-7-deazapurinu přednostně chlor v poloze 6 (obr. 2)²². Nevýhodou Stilleho reakce je použití toxických stannanů, jejichž případná rezidua mohou ovlivnit biologické vlastnosti produktů.



Obr. 2. Příprava aryl-7-deazapurinových nukleosidů Stilleho a Negishiho reakcí^{9,22}; a: RSnBu_3 , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, DMF, 100 °C; b: RZnCl , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, THF, 90 °C



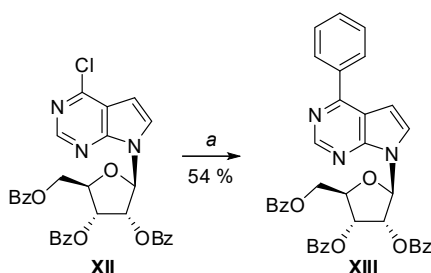
Obr. 3. Příprava aryl-7-deazapurinových nukleosidů Suzukiho-Miyaurovou reakcí^{9,22}; a: RB(OH)_2 , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, K_2CO_3 , toluen, 100 °C; b: RB(OH)_2 , Pd(OAc)_2 , TPPTS, Na_2CO_3 , voda – acetonitril (2:1), 100 °C

Negishiho reakce s organozinacelnými činidly byla použita pro přípravu hetaryl-7-deazapurinových ribonukleosidů substituovaných pětičlennými dusíkatými heterocykly^{9,22}. Reakce probíhá za katalýzy $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ v tetrahydrofuranu (THF) a výtěžky se pohybují mezi 40–80 % (obr. 2)²².

Nejrozšířenější reakcí pro zavedení aryl-ových substituentů na 7-deazapurin je však Suzukiho-Miyaurova reakce s arylboronovými kyselinami^{9,22} nebo jejich estery s pinakolem²³, které jsou většinou komerčně dostupné. Typické podmínky pro Suzukiho-Miyaurovu reakci na substrátech s chráněnými hydroxyskupinami využívají katalýzu $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ za přítomnosti uhličitanu draselného jako báze a jako rozpouštědlo se nejčastěji používá toluen (obr. 3)²². Častější se však reakce s volnými nukleosidy, kde je katalyzátorem octan palladnatý v kombinaci s fosfinovým ligandem rozpustným ve vodě, 3,3',3''-fosfantriyltris(benzensulfonátem) sodným (TPPTS), a reakce se provádí za přítomnosti uhličitanu sodného ve směsi vody a acetonitrilu (obr. 3)^{9,22}.

Kvůli vysoké ceně palladiových katalyzátorů a rovněž kvůli riziku vzniku toxických reziduí v produktech určených k biologickému testování byla nedávno vyvinuta alternativní metoda přípravy 6-aryl-7-deazapurinových ribonukleosidů, která využívá katalýzu železem a mědí²⁴. Zdrojem aryl-ové skupiny je zde příslušné Grignardovo činidlo. Reakce poskytuje výtěžky 20–60 % (obr. 4).

Uvedené reakce mají obecné použití a byla jimi připravena celá řada aryl-7-deazapurinových nukleosidů, jejichž biologické aktivitu se budeme věnovat níže.

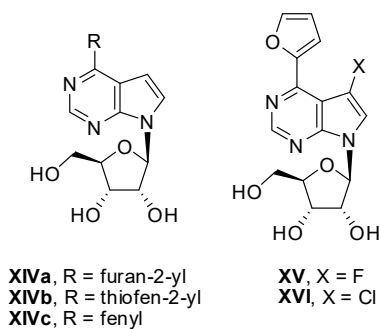


Obr. 4. Příprava 6-aryl-7-deazapurinových nukleosidů bez palladiových katalyzátorů²⁴; a: RMgBr, Fe(acac)₃, CuI, THF, NMP, 0 °C

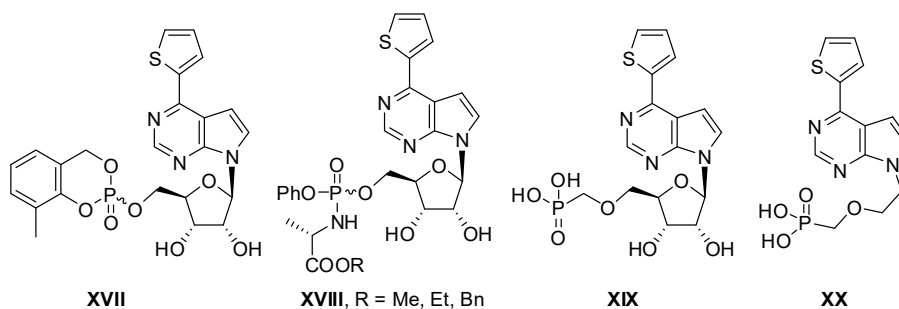
3. Aryl-7-deazapurinové nukleosidy s cytotoxickou aktivitou

3.1. 6-Aryl-7-deazapurinové nukleosidy

Aryl-7-deazapurinové ribonukleosidy je možno rozdělit do dvou strukturních skupin podle polohy arylu. Zatímco 7-aryl-7-deazapurinové nukleosidy lze považovat za analogy tubercidinu (**III**), 6-aryl deriváty nejsou přímo odvozeny od přírodních nukleosidů. Arylová skupina v poloze 6 znemožňuje standardní Watson-Crickovské párování bazí a může tak velmi ovlivnit mechanismus



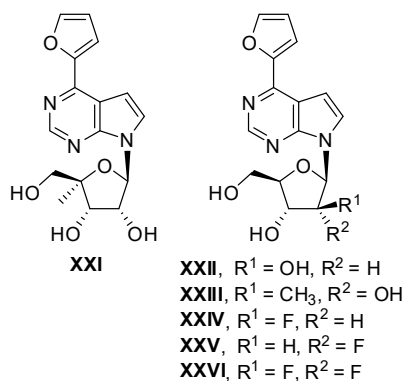
Obr. 5. 6-(Het)aryl-7-deazapurinové ribonukleosidy



Obr. 6. Proléčiva a cyklické a acyklické fosfonáty odvozené od 6-hetaryl-7-deazapurinových nukleosidů

účinku nukleosidu. Mezi 6-aryl- a 6-hetaryl-7-deazapurinovými ribonukleosidy byly objeveny deriváty se silnou cytotoxickou aktivitou ($IC_{50} < 100$ nM, IC_{50} je koncentrace, kdy přežívá 50 % buněk) vůči nejružnějším nádorovým liniím (např. jsou účinné vůči karcinomu plic A549, karcinomu prostaty Du145, kolorektálnímu karcinomu HCT166 a karcinomu prsu Hs578) (obr. 5)²². Nejaktivnějšími byly deriváty substituované pětičlennými heterocykly, zejména furanem (látka **XIVa**) a thiofenem (látka **XIVb**), naopak sloučeniny s většími substituenty (např. fenyl derivát **XIVc**) byly výrazně méně aktivní, nebo zcela neúčinné. Silná cytotoxická aktivita nebyla ovlivněna přítomností fluoru v poloze 7 u derivátu **XV**, naopak 7-chlorderivát **XVI** byl o řád méně aktivní než výchozí derivát **XIVa**, který nenese substituent v poloze 7. Ukázalo se, že účinnost buněčné fosforylace je u 7-chlorderivátu **XVI** oproti nesubstituovanému nukleosidu **XIVa** výrazně nižší. Znamená to, že efektivní fosforylace je, stejně jako u přírodních cytotoxických 7-deazapurinových nukleosidů, pro cytotoxickou aktivitu 6-hetaryl-7-deazapurinových ribonukleosidů klíčová.

Vzhledem k tomu, že účinnost fosforylace 7-deazapurinových nukleosidů buněčnou adenosinkinásou může být limitujícím faktorem pro cytotoxickou aktivitu 6-hetaryl-7-deazapurinových nukleosidů, byly připraveny dvě série jejich fosfátových proléčiv (obr. 6). V případě tzv. *cykloSal*-pronukleotidů (např. **XVII**) se proléčivo samovolně hydrolyzuje z důvodu vyššího vnitrobuněčného pH. U fosforamidátových proléčiv (např. **XVIII**) dochází k enzymatické hydrolýze. V obou případech je do buněk uvolněn příslušný ribonukleosidmonofosfát, čímž odpadá nutnost fosforylace nukleosidu adenosinkinásou. Zatímco *cykloSal*-pronukleotidy (jako **XVII**)²⁵ měly cytotoxickou aktivitu srovnatelnou s příslušnými nukleosidy, u fosforamidátových proléčiv (jako u **XVIII**)²⁶ došlo k výraznému snížení aktivity na mikromolární úrovni, protože tato proléčiva byla velmi účinně transportována ven z buněk. Zdá se tedy, že použití fosfátových proléčiv nevede ke zvýšení cytotoxické aktivity 6-hetaryl-7-deazapurinových ribonukleosidů. Zcela neúčinné pak byly cyklické (**XIX**) a acyklické (**XX**) fosfonáty, které by měly strukturně napodobovat 6-hetaryl-7-deazapurinové nukleosidmonofosfáty²⁷.

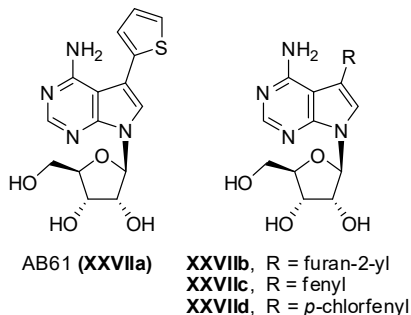


Obr. 7. 6-Hetaryl-7-deazapurinové nukleosidy s cukerními modifikacemi

Dále byla věnována pozornost vlivu cukerních modifikací na cytotoxickou aktivitu 6-aryl-7-deazapurinových nukleosidů (obr. 7). Byly připraveny nukleosidy s modifikacemi v poloze 4' (XXI)²⁸ a v poloze 2' (XXII a XXIII)²⁰, včetně tří sérií fluorovaných nukleosidů (např. XXIV²⁰, XXV²⁹ a XXVI²⁹). Žádná z připravených látek však nebyla aktivní. Ukázalo se tedy, že ribosový motiv je zásadní pro zachování silné cytotoxické aktivity 6-hetaryl-7-deazapurinových nukleosidů. Přesný mechanismus účinku 6-hetaryl-7-deazapurinových ribonukleosidů dosud nebyl popsán. Ví se však, že tyto nukleosidy způsobují (přímou či nepřímou) inhibici syntézy RNA v buňkách²², zatímco syntéza DNA je ovlivněna jen mírně. To je možná jeden z důvodů, proč jsou cytotoxické právě pouze ribonukleosidy. Molekulární cíl těchto látek však zůstává neznámý.

3.2. 7-Aryl-7-deazapurinové nukleosidy

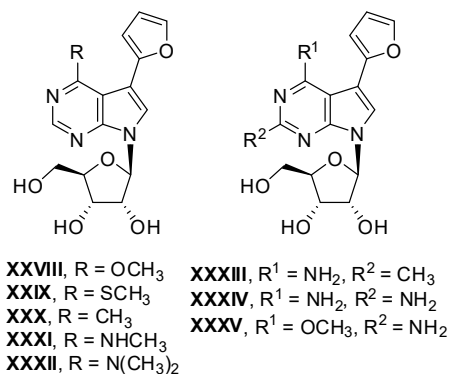
7-Deazapurinové nukleosidy s arylovou skupinou v poloze 7 lze považovat za analogy přírodních cytotoxických nukleosidů, tubercidinu (III), toyokamycinu (IV) a sangivamycinu (V). První deriváty z této skupiny byly připraveny již v 70. letech 20. století a byla u nich pozorována protileukemická aktivita³⁰. Více však byly 7-aryl-7-deazapurinové nukleosidy zkoumány až v posledních letech. Mezi 7-aryl-7-deazaadenosinovými deriváty



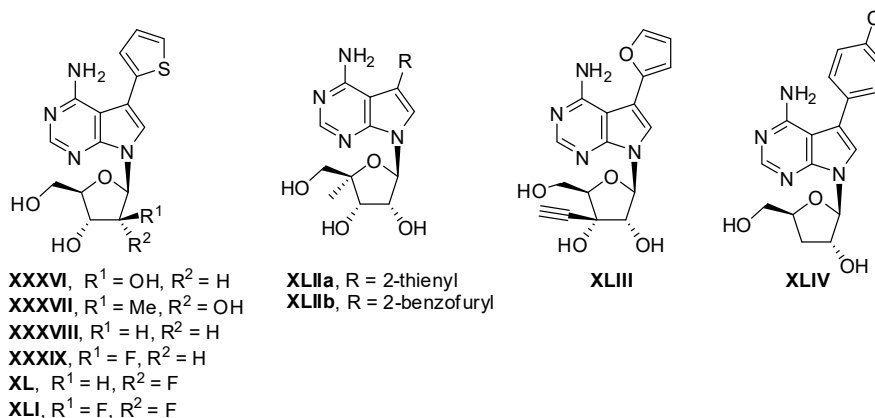
Obr. 8. Cytotoxické a protiparazitární 7-(het)aryl-7-deazaadenosiny

XXVII byla objevena řada látek s cytotoxickou aktivitou vůči nádorovým buněčným liniím⁹ a také s aktivitou proti trypanosomám²³. Silně cytotoxické jsou deriváty substituované pětičlenným heterocyklem, např. thiofenem (XXVIIa) nebo furanem (XXVIIb). Naopak deriváty s objemnějšími substituenty, např. fenyl derivát (XXVIIc), cytotoxickou aktivitu nemají, nebo jsou cytotoxické pouze v mikromolárních koncentracích⁹. Mechanismus cytotoxického účinku byl podrobně studován u látky XXVIIa označované jako AB61 (cit.³¹). Látka AB61 (XXVIIa) je cytotoxická v nanomolárních koncentracích (IC₅₀ 0,4 až 70 nM) vůči celé řadě nádorových a leukemických buněčných linií, včetně rezistentních linií a linií s mutovaným genem *p53*. Naopak vůči normálním fibroblastům je její cytotoxicita výrazně nižší (IC₅₀ ~ 10 μM). Důvodem vysoké selektivity AB61 (XXVIIa) je skutečnost, že je nukleosid v nádorových buňkách účinně fosforylován, kdežto v normálních buňkách je úroveň fosforylace velmi nízká. AB61 (XXVIIa) se ve formě ribonukleotidu inkorporuje do buněčné RNA i DNA. Inkorporace do mRNA pak vede k inhibici translace. Přítomnost ribonukleotidu AB61 v DNA aktivuje opravné mechanismy DNA a v DNA vznikají dvouřetězcové zlomy, které nakonec způsobí apoptózu buňky. Navíc je nukleosidtrifosfát odvozený od AB61 substrátem mitochondriální DNA polymerasy γ a může tak ovlivňovat replikaci mitochondriální DNA i další funkce mitochondrií. Působení látky AB61 (XXVIIa) je tedy velmi komplexní a svým mechanismem účinku se tato sloučenina odlišuje od jiných známých cytotoxických nukleosidů. Protinádorová aktivita látky AB61 (XXVIIa) byla také testována *in vivo* v myších, kde se ukázal slibný účinek proti xenograftům kolorektálního karcinomu a karcinomů prsu a vaječníků³¹.

V rámci studia závislosti cytotoxické aktivity na struktuře byly připraveny série 7-(het)aryl-7-deazapurinových nukleosidů s dalšími modifikacemi na nukleobázi a cukerní části molekuly. Byl zkoumán vliv substituce 7-deazapurinu v polohách 2 a 6 (cit.³²). Přítomnost methylové nebo aminoskupiny v poloze 2 (u derivátů XXXIII–XXXV) není tolerována a dané sloučeniny nebyly cytotoxické vůči nádorovým buněčným liniím. Naopak u 6-substituovaných derivátů byl cytotoxický efekt zacho-



Obr. 9. 7-(Het)aryl-7-deazapurinové nukleosidy s modifikacemi v polohách 2 a 6



Obr. 10. 7-(Het)aryl-7-deazapurinové nukleosidy s cukernými modifikacemi

ván. Mezi připravenými sloučeninami byly typicky nejvíce cytotoxické 2-furylderiváty (**XXVIII–XXXII**). Submikromolární cytotoxická aktivita *in vitro* vůči nádorovým liniím 6-methoxy- (**XXVIII**), 6-methylsulfanyl- (**XXIX**), a 6-methylderivátu (**XXX**) byla srovnatelná s již zmíněným 7-deazaadenosinovým derivátem **XXVIIb**. Přesný mechanismus cytotoxického působení 6-substituovaných derivátů není znám. Stejně jako u 7-hetaryl-7-deazaadenosidů **XXVII** však docházelo k výrazné inhibici syntézy RNA v buňkách. Znamená to tedy, že i když nukleosidy ztratí možnost standardního Watson-Crickovského párování, jejich cytotoxická aktivita nemusí být ovlivněna.

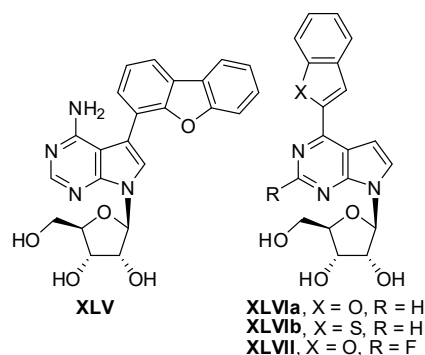
Pozornost byla věnována také nukleosidům s cukernými modifikacemi odvozeným od 7-hetaryl-7-deazaadenosinů (obr. 10). Byly připraveny 2'-modifikované analogy látky AB61 (**XXXVI–XXXVIII**)³³ a fluorované nukleosidy (**XXXIX–XLI**)^{33,34}. Modifikace v poloze 2' obecně vedla ke snížení cytotoxické aktivity. Látky **XXXVI**, **XXXIX** a **XLI** byly cytotoxické vůči nádorovým buněčným liniím v mikromolárních koncentracích, naopak sloučeniny **XXXVII**, **XXXVIII** a **XL** byly zcela neúčinné. Také modifikace v poloze 4' u 7-hetaryl-7-deaza-4'-C-methyl-ribonukleosidů **XLII** vede ke snížení cytotoxické aktivity vůči nádorovým buněčným liniím. Analog látky AB61 (**XLIIa**) je zcela neaktivní, u derivátu **XLIIb**, který nese objemný benzofuranový substituent, byla pozorována pouze mírná cytotoxicita²⁸. Stejně tak i v případě 3'-modifikovaných nukleosidů, jako např. u 3'-C-ethynyl-ribonukleosidu **XLIII**, je cytotoxická aktivita pouze slabá³⁵. Na rozdíl od 6-hetaryl-7-deazapurinových nukleosidů není pro cytotoxický účinek v případě 7-hetaryl-7-deazaadeninových nukleosidů zachování ribosové části molekuly tak striktní. Je však pravděpodobné, že mírná cytotoxicita nukleosidů s modifikacemi na ribose souvisí spíše s jejich odlišným mechanismem účinku oproti ribonukleosidům. Například nukleosidtrifosfát odvozený od fluorderivátu **XLI** je inhibitorem lidské DNA polymerasy α , zatímco ribonukleosidtrifosfát látky AB61 (**XXVIIa**) tento enzym neinhubuje³⁴. Detailní mechanismy účinku však u cukerných derivátů 7-deazaadenosinových nukleosidů

studovány nebyly.

Výrazné snížení cytotoxické aktivity 7-aryl-7-deazaadenosinů substituovaných šestičlennými aromatickými substituenty bylo nedávno úspěšně využito při vývoji látek s aktivitami proti trypanosomám, původcům spavé nemoci a Chagasovy choroby²³. Nízká cytotoxicita nukleosidů je zde vítaná, protože je nutné, aby potenciální protiparazitární deriváty nebyly toxické vůči lidským buňkám. Skupina prof. Van Calenbergha připravila nukleosidy **XXVIIId** a **XLIV**, které byly účinné i *in vivo* na myším modelu Chagasovy choroby³⁶.

4. Aryl-7-deazapurinové nukleosidy jako inhibitory mykobakteriální adenosinkinasy

Řada patogenů jako např. trypanosomy postrádá enzymy pro *de novo* syntézu purinu. Mohou využívat pouze purinovou šetřící dráhu (purine salvage pathway) a jsou závislé na přísunu purinových derivátů od hostitele, čehož se hojně využívá při návrhu nových derivátů proti těmto patogenům. V purinové šetřící dráze se nukleotidy tvoří z nukleobázi a 5'-fosforibosyl-1'-difosfátu, případně fosfo-



Obr. 11. Hetaryl-7-deazapurinové ribonukleosidy jako inhibitory mykobakteriální adenosinkinasy

rylací nukleosidů, například adenosinkinasou. V případě původce tuberkulózy, *Mycobacterium tuberculosis*, jsou sice přítomny obě biosyntetické dráhy, jejich vzájemné propojení a mechanismy jejich regulace jsou však stále nejasné. Mykobakteriální adenosinkinasa (*Mtb*-ADK) je strukturně velmi odlišná od lidské adenosinkinasy a zdá se proto jako vhodný cíl antituberkulotik³⁷.

Inhibitory *Mtb*-ADK (obr. 11) musí být dostatečně selektivní a zároveň nesmí být cytotoxické vůči lidským buňkám. Takové vlastnosti mají 7-deazaadenosinové deriváty s objemným heterocyklickým substituentem v poloze 7, např. látka **XLV** (cit.³⁸). Derivát **XLV** je selektivní inhibitor *Mtb*-ADK ($IC_{50} = 0,6 \mu M$), který je účinný proti různým kmenům *Mycobacterium tuberculosis* v mikromolárních koncentracích. Také mezi 6-hetaryl-7-deazapurinovými ribonukleosidy bylo objeveno několik látek, které výrazně inhibují *Mtb*-ADK (cit.²¹). Jsou to např. deriváty s objemnějším benzofurylovým, resp. benzothienylovým substituentem v poloze 6, **XLVIa** a **XLVIb**, které jsou silnými inhibitory *Mtb*-ADK ($IC_{50} = 14,5$, resp. $7,5 nM$) s vynikající selektivitou a zároveň nejsou vůbec cytotoxické. Další modifikací struktury byl získán ještě účinnější 2-fluorderivát **XLVII** ($IC_{50} = 1,2 nM$)³⁹. U všech zmíněných 6-hetaryl-7-deazapurinových ribonukleosidů však silná inhibice *Mtb*-ADK nekoreluje s antimykobakteriálními aktivitami, které jsou u těchto derivátů jen velmi slabé. Důvodem pro tuto skutečnost může být nedostatečná vnitrobuněčná koncentrace těchto látek způsobená špatným pronikáním těchto nukleosidů přes mykobakteriální buněčnou stěnu. Druhým možným vysvětlením je fakt, že adenosinmonofosfát může být v mykobakteriích syntetizován i alternativními biosyntetickými cestami purinové šetřící dráhy.

5. Závěr

Mezi aryl-substituovanými 7-deazapurinovými nukleosidy byly objeveny látky vhodné pro další vývoj směřovaný k protinádorové léčbě, stejně tak jako sloučeniny se zajímavou protiparazitární aktivitou. Přítomnost arylové nebo hetarylové skupiny má značný vliv na jejich biologickou aktivitu. Změnami velikosti arylového substituentu je možné ovlivnit cytotoxickou aktivitu daného derivátu tak, aby byla zachována protiparazitární aktivita. Vzhledem ke své snadné a přímočaré syntéze představují aryl-7-deazapurinové nukleosidy skupinu látek se značným potenciálem pro uplatnění v medicíně a vývoji nových léčiv.

Autorka děkuje prof. Michalu Hockovi za jeho vedení v průběhu doktorského studia i po něm. Zároveň si velmi váží ocenění Cenou Alfreda Badera a ráda by vyjádřila poděkování České společnosti chemické za podporu mladých českých chemiků a chemiček a organizaci této soutěže.

Tento přehledový článek vznikl za podpory Evropského fondu pro regionální rozvoj; Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání; projekt ChemBioDrug, reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000729.

LITERATURA

- Jordheim L. P., Durantel D., Zoulim F., Dumontet C.: *Nat. Rev. Drug Discov.* 12, 447 (2013).
- Milisavljević N., Perlíková P., Pohl R., Hocek M.: *Org. Biomol. Chem.* 16, 5800 (2018).
- Hocek M.: *J. Org. Chem.* 79, 9914 (2014).
- Kielkowski P., Fanfrlík J., Hocek, M.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 53, 7552 (2014).
- Cahová H., Panattoni A., Kielkowski P., Fanfrlík J., Hocek M.: *ACS Chem. Biol.* 11, 3165 (2016).
- Morris R. C., Elliott M. S.: *Mol. Genet. Metab.* 74, 147 (2001).
- Thiaville J. J. a 13 spoluautorů: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 113, E1452 (2016).
- Hutinet G. a 18 spoluautorů: *Nat. Commun.* 10, 5442 (2019).
- Bourderieux A. a 15 spoluautorů: *J. Med. Chem.* 54, 5498 (2011).
- Gunic E., Girardet J.-L., Pietrzowski Z., Esler C., Wang G.: *Bioorg. Med. Chem.* 9, 163 (2001).
- Huang B.-G., Bobek M.: *Carbohydr. Res.* 308, 319 (1998).
- Wakao K., Watanabe T., Takadama T., Ui S., Shigemmi, Z., Kagawa H., Higashi C., Ohga R., Taira T., Fujimuro M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 444, 135 (2014).
- Loomis C. R., Bell R. M.: *J. Biol. Chem.* 263, 1682 (1988).
- De Coen L. M., Heugebaert T. S. A., Garcia D., Stevens C. V.: *Chem. Rev.* 116, 80 (2016).
- Perlíková P., Hocek M.: *Med. Res. Rev.* 37, 1429 (2017).
- Sajadikhah, S. S., Zare, A.: *Chem. Heterocycl. Compds.* 55, 1168 (2019).
- Seela F., Peng X. H.: *Curr. Top. Med. Chem.* 6, 867 (2006).
- Seela F., Peng X. H., Budow S.: *Curr. Org. Chem.* 11, 427 (2007).
- Ingale S. A., Leonard P., Seela F.: *J. Org. Chem.* 83, 8589 (2018).
- Nauš P., Perlíková P., Pohl R., Hocek M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 76, 957 (2011).
- Perlíková P., Konečný P., Nauš P., Snášel J., Votruba I., Džubák P., Pichová I., Hajdúch M., Hocek M.: *MedChemComm* 4, 1497 (2013).
- Nauš P. a 11 spoluautorů: *J. Med. Chem.* 53, 460 (2010).
- Hulpia F., Campagnaro G. D., Scortichini M., Van Hecke K., Maes L., de Koning H. P., Caljon G., Van Calenbergh S.: *Eur. J. Med. Chem.* 164, 689, (2019).
- Li Q., Persoons L., Daelemans D., Herdewijn P.: *J. Org. Chem.* 85, 403 (2020).
- Spáčilová P. a 10 spoluautorů: *ChemMedChem* 5, 1386 (2010).
- Perlíková P., Pohl R., Votruba I., Shih R., Birkuš G., Cihlář T., Hocek M.: *Bioorg. Med. Chem.* 19, 229 (2011).
- Malnuit V., Smoleň S., Tichý M., Poštová Slavětinská

- L., Hocek M.: *Eur. J. Org. Chem.* 2019, 5409.
28. Nauš P., Caletková O., Perlíková P., Poštová Slavětinská L., Tloušťová E., Hodek J., Weber J., Džubák P., Hajdúch M., Hocek M.: *Bioorg. Med. Chem.* 23, 7422 (2015).
29. Perlíková P., Jornet Martínez N., Slavětinská L., Hocek M.: *Tetrahedron* 68, 8300 (2012).
30. Schram K. H., Townsend L. B.: *J. Carb. Nucleos. Nucl. I*, 39, (1974).
31. Perlíková P. a 16 spoluautorů: *Mol. Cancer Ther.* 15, 922 (2016).
32. Nauš P. a 11 spoluautorů: *J. Med. Chem.* 57, 1097 (2014).
33. Nauš P., Perlíková P., Bourderieux A., Pohl R., Slavětinská L., Votruba I., Bahador G., Birkuš G., Cihlár T., Hocek M.: *Bioorg. Med. Chem.* 20, 5202 (2012).
34. Perlíková P., Eberlin L., Ménová P., Raindlová V., Slavětinská L., Tloušťová E., Bahador G., Lee Y.-J., Hocek M.: *ChemMedChem* 8, 832 (2013).
35. Hulpia F., Noppen S., Schols D., Andrei G., Snoeck R., Liekens S., Vervaeke P., Van Calenbergh S.: *Eur. J. Med. Chem.* 157, 248 (2018).
36. Hulpia F., Van Hecke K., da Silva C. F., Batista D. G. J., Maes, L., Caljon G., Soeiro M. D. C., Van Calenbergh S.: *J. Med. Chem.* 61, 9287 (2018).
37. Parker W. B., Long M. C.: *Curr. Pharm. Des.* 13, 599 (2007).
38. Snášel J. a 19 spoluautorů: *J. Med. Chem.* 57, 8268 (2014).
39. Malnuit V., Poštová Slavětinská L., Nauš P., Džubák P., Hajdúch M., Stolaříková J., Snášel J., Pichová I., Hocek M.: *ChemMedChem* 10, 1079 (2015).

P. Perlíková (*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the Czech Academy of Sciences, Prague*):
Aryl-7-deazapurine Nucleosides and their Biological Activity

Aryl-7-deazapurine nucleosides possess interesting cytotoxic and antiparasitic activities. This review summarizes synthetic approaches to introduction of aryl group to the nucleobase of 7-deazapurine nucleosides. Biological activities of 7-deazapurine nucleosides, their mode of action and structure-activity relationships are discussed. The most promising compounds with cytotoxic activities against cancer cells are 6-hetaryl-7-deazapurine ribonucleosides substituted with a 5-membered heterocycle and 7-hetaryl-7-deazaadenosines with the same substituents. A new complex mode of action was described for 7-(2-thienyl)-7-deazaadenosine (AB61). Significant antitrypanosomal activities both *in vitro* and *in vivo* were discovered among 7-phenyl-7-deazaadenine nucleosides. 6-Hetaryl-7-deazapurine ribonucleosides with bulky heterocyclic substituents in position 6 strongly and selectively inhibit mycobacterial adenosine kinase. Due to their diverse application possibilities and relatively easy synthesis, aryl-7-deazapurine nucleosides represent a source of interesting new compounds for further research by medicinal chemists.

Keywords: nucleoside, 7-deazapurine, cytotoxicity, adenosine kinase

Acknowledgements

This work was supported by European Regional Development Fund; OP RDE (No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000729).

BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY Z MOŘSKÝCH ŘAS A SINIC

TEREZA PŘEROVSKÁ, EVA BENEŠOVÁ
a PETRA LIPOVOVÁÚstav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6
tprerovska@gmail.com, karasovp@vscht.cz

Došlo 22.9.20, přijato 8.2.21.

Klíčová slova: řasy, sinice, biologicky aktivní látky

Obsah

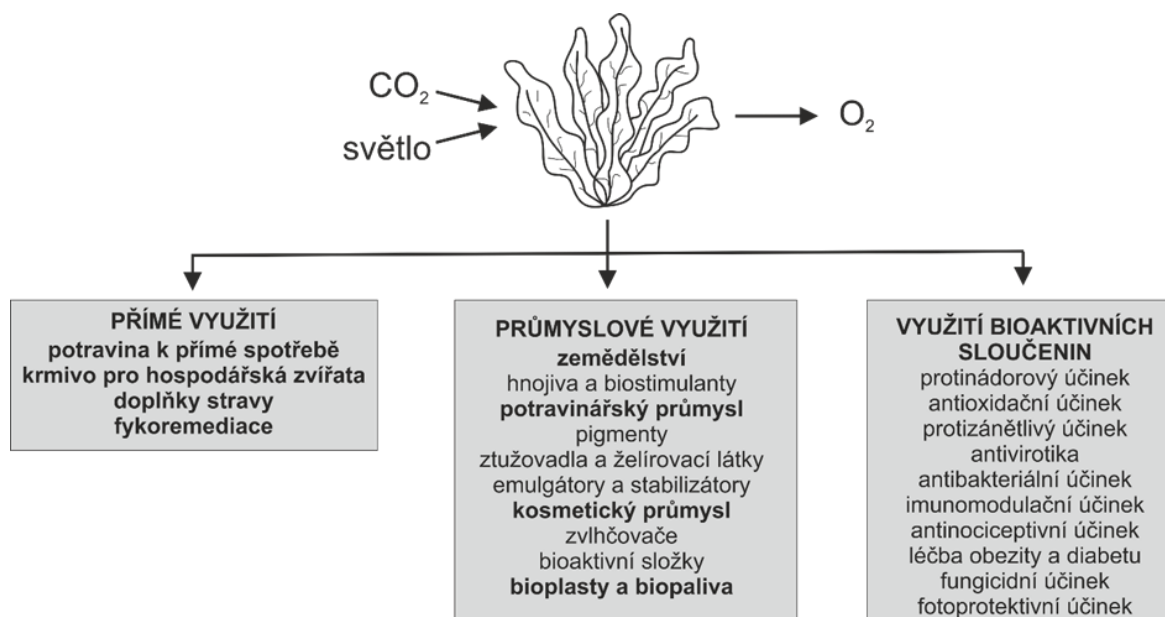
1. Úvod
2. Polysacharidy
 - 2.1. Polysacharidy chaluhy (hnědých řas) – algináty, fukoidany, laminariny
 - 2.2. Polysacharidy ruduch (červených řas) – karagenany, agar
 - 2.3. Polysacharidy zelených řas – ulvany
3. Lipidy
 - 3.1. Polynenasycené mastné kyseliny
 - 3.2. Terpenoidy
4. Pigmenty
 - 4.1. Chlorofyly
 - 4.2. Karotenoidy
 - 4.3. Fykobiliproteiny
 - 4.4. Scytonemin
5. Proteiny a látky odvozené od aminokyselin
 - 5.1. Mykosporinu podobné aminokyseliny
 - 5.2. Lektiny
 - 5.3. Bioaktivní peptidy
6. Fenolické látky
7. Alkaloidy
8. Závěr

1. Úvod

Oceán pokrývá více než 70 % zemského povrchu a skrývá v sobě neuvěřitelnou biodiverzitu, přičemž řasy patří mezi jedny z nejvíce prozkoumaných mořských organismů¹. Kromě moře se řasy vyskytují také ve sladkých vodách, v půdě či v symbióze s živočichy nebo rostlinami². Řasy jsou řazeny do několika odlišných říší. Do společných charakteristik patří skutečnosti, že si během evoluce opatřily chloroplast, získaly schopnost fotosyntézy, a tak představují v potravních řetězcích primární producenty. Jelikož se jedná o velmi nepříbuzné skupiny orga-

nismů, vyznačují se nevídanou variabilitou, co se týče složení a organizace buněk i jejich mnohobuněčných stélek³. Řasy mohou být rozděleny na základě velikosti na mikrořasy o velikosti několika mikrometrů a makrořasy dosahující až 60 metrů (cit.²). Dnes již zastaralé, avšak pro svou jednoduchost stále používané členění řas, je založeno na obsažených pigmentech, podle kterých rozeznáváme řasy zelené, červené, hnědé a dále pak sinice, které jsou však prokaryotického původu. Navzdory faktu, že sinice nepatří mezi řasy (jsou příbuzné bakteriím), jsou obvykle zahrnovány v publikacích týkajících se řas^{2,4}. Velmi zjednodušeně lze říct, že mikrořasy jsou přítomny téměř ve všech známých superskupinách kromě říší *Opisthokonta* a *Amoebozoa*. Mezi makrořasy patří hnědé chaluhy (*Phaeophyceae* z říše SAR) a dále pak červené ruduchy (*Rhodophyta*) a zelené makrořasy (*Ulvophyceae* a *Charophyceae*), které však jsou vzhledem ke své příslušnosti k říši Archaeplastida příbuznější rostlinám^{3,5}. Mořské řasy se musely přizpůsobit nepříznivým podmínkám, například kolísající osmolaritě, teplotě, intenzitě slunečního záření a dostupnosti živin. Právě díky těmto faktorům jsou mořské řasy stimulovány k produkci sekundárních metabolitů s jedinečnou chemickou strukturou a výjimečnou biologickou aktivitou². Některé z těchto metabolitů jsou halogenovány, což má souvislost s dostupností chloridových, bromidových a jodidových iontů v mořské vodě⁶. Sulfatace polysacharidů je dalším adaptačním mechanismem mořských řas na zvýšenou salinitu mořského prostředí⁷. Tyto specifické modifikace jsou často zodpovědné za biologickou aktivitu těchto látek nebo ji alespoň modifikují^{6,8,9}.

Řasy samotné nebo jejich metabolity nacházejí využití ve všech odvětvích biotechnologií. Využívají se například při bioremediaci odpadních vod nebo jako krmivo, hnojivo a biostimulátor v zemědělství^{2,10,11}. Díky výborným nutričním vlastnostem jsou řasy sbírány a konzumovány už celá tisíciletí. V poslední době se tento trend celosvětově rozšířil a řasy jsou hojně používány v potravinářském průmyslu. Vzhledem k ztenčujícím se zásobám fosilních paliv a zvyšující se spotřebě energie jsou řasy také slibným zdrojem biomasy pro produkci biopaliv². Ovšem nejcennějšími produkty řas jsou rozličné biologicky aktivní látky, kam náleží celá řada sloučenin lišících se strukturou i biologickou aktivitou (obr. 1). Patří mezi ně například sulfatované polysacharidy, mastné kyseliny, terpenoidy, pigmenty, fenolické látky a halogenované sloučeniny. U těchto sloučenin byly mimo jiné prokázány antibakteriální, antivirové, protirakovinné, antioxidační, protizánětlivé, hepatoprotektivní, kardioprotektivní, imunomodulační a neuroprotektivní účinky^{10,12}. Na produkci těchto cenných metabolitů má velký vliv i způsob kultivace řas, neboť za normálních podmínek je obsah těchto látek velmi nízký a k jejich akumulaci dochází až po in-



Obr. 1. Přehled využití řas a jejich produktů v různých biotechnologických odvětvích

dukci stresovými faktory, jako jsou nadměrné osvětlení, vysoká teplota, deprivace živin či UV záření¹³. Řasy mohou být kultivovány v otevřených systémech nebo uzavřených fotobioreaktorech v závislosti na požadavcích na výstupní produkt¹⁴.

Tento článek představuje základní přehled biologicky aktivních látek přítomných v mořských řasách a sinicích, a to jak z hlediska struktury a biologických aktivit, tak i jejich reálného využití.

2. Polysacharidy

Mořské řasy obsahují velké množství polysacharidů, jež slouží jako stavební prvky buněčné stěny a také jako zásoba energie. Kromě dobře známých strukturních polysacharidů (celulosa, hemicelulosa atd.) obsahují mořské řasy i druhově specifické polysacharidy, které jsou ve většině případů sulfatované. Obsah a složení polysacharidů je značně variabilní v závislosti na druhu, vývojové fázi, lokalizaci a ročním období^{15,16}. Z ekonomického hlediska polysacharidy představují nejvýznamnější produkty z řas, a to díky hojnému využití v potravinářském a zemědělském průmyslu. V kosmetickém a farmaceutickém průmyslu nacházejí uplatnění zejména sulfatované polysacharidy, které jsou známé pro své rozmanité biologické účinky, včetně antioxidační, antivirové, imunomodulační, antimikrobiální a protirakovinné aktivity^{10,12,17}.

2.1. Polysacharidy chaluhy (hnědých řas) – algináty, fukoidany, laminariny

Algináty jsou lineární kopolymery β -D-manuronové a α -L-guluronové kyseliny spojené (1,4)-glykosidovou vazbou¹⁵. Poměr β -D-manuronových a α -L-guluronových kyselin a jejich uspořádání v rámci tohoto fykokoloidu určuje jeho fyzikálně-chemické vlastnosti¹⁶. Díky schopnosti vytvářet termostabilní gely a zvyšovat viskozitu roztoku se algináty využívají v potravinářském průmyslu zejména jako zahušťovač, želírující látky, emulgátory či stabilizátory. Dále nalezly uplatnění v kosmetickém, textilním, papírenském, zemědělském a farmaceutickém průmyslu. Biomateriály na bázi alginátů se využívají k regeneraci srdeční tkáně, krytí ran či jako výplňový materiál estetické medicíny¹⁸.

Fukoidany jsou heteropolymery fukosy, přičemž více jak 90 % polysacharidu tvoří α -L-fukosa. Zbýlých 10 % tvoří zejména galaktosa, arabinosa, xylosa, rhamnosa či uronové kyseliny a jsou součástí větvení. Rozlišujeme dva typy polysacharidové kostry fukoidanu, první obsahuje pouze α -L-fukosy spojené (1,3)-glykosidovou vazbou, zatímco u druhého typu se střídá (1,3) a (1,4)-glykosidová vazba¹⁵. Ačkoliv u těchto polymerů byla popsána celá řada biologických aktivit a vhodných vlastností pro tkáňové inženýrství či cílený transport léčiv, jejich neuvěřitelná variabilita představuje velký problém pro průmyslové využití^{18,19}. Bylo zjištěno, že nízká molekulová hmotnost a vysoký stupeň sulfatace mají pozitivní vliv na potlačení rakovinného bujení²⁰. Mechanismus protirakovinných účinků není ještě kompletně popsán, nicméně byla prokázána inhibice angiogeneze, prevence tvorby metastáz či stimulace imunitního systému^{2,18}.

Laminariny jsou nízkomolekulární zásobní polysacharidy vyskytující se zejména v rodech *Ecklonia*, *Eisenia*, *Saccharina* a *Laminaria*. Strukturně se jedná o β -(1,3)-glukany s možným β -(1,6) větvením a nízkým obsahem uronových kyselin¹⁸. Výzkum těchto polysacharidů se soustřeďuje na nejruznější strukturní modifikace, které zlepšují jejich fyzikálně-chemické a mechanické vlastnosti a biologické účinky. Modifikované laminariny, například methakrylované laminarin, se využívají v tkáňovém inženýrství ve vývoji hydrogelů urychlujících hojení^{15,21}.

2.2. Polysacharidy ruduch (červených řas) – karagenany, agar

Karagenany jsou lineární sulfátované polysacharidy tvořené opakujícími se jednotkami disacharidu sestávajícího z β -D-galaktosy vázané buď na α -D-galaktosu nebo na 3,6-anhydro- α -D-galaktosu pomocí střídajících se (1,3) a (1,4)-glykosidových vazeb. Na základě stupně sulfatace rozlišujeme λ , κ , ι , ϵ a μ karagenany, přičemž z komerčního hlediska jsou nejvýznamnější κ , λ a ι (cit.²²). Jejich výskyt a zastoupení se liší v jednotlivých druzích řas, někdy dokonce v jednotlivých vývojových stádiích. Karagenany jsou rozpustné ve vodných roztocích o vysokém pH, ve kterých vytváří termoreverzibilní gely (ι a κ) nebo viskózní roztoky (λ). Díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem nacházejí uplatnění zejména v potravinářském průmyslu, ve kterém se využívají jako stabilizátory nebo želírovací látky. Dále jsou součástí zubních past, gelových osvěžovačů vzduchu či krmiv a mohou být využity k imobilizaci buněk nebo enzymů¹⁸. Karagenany se také využívají k vyvolání akutní zánětlivé reakce u laboratorních zvířat¹⁵. Carragelose® (ι karagenan ve spreji) představuje prozatím jediný léčivý přípravek na trhu s antivirovými účinky izolovaný z řas²³.

Agar je poslední ze tří hlavních fykokoloidů z mořských řas. Jedná se o směs agarosy a agaropektinu, která se získává zejména z rodu *Gracilaria* a *Gelidium*. U obou polysacharidů je základní strukturní jednotka tvořena z β -D-galaktosy a 3,6-anhydro- α -L-galaktosy. Zatímco agarosa je neutrální lineární kopolymer schopný vytvářet tuhý gel, agaropektin je nabitý a větvený polymer, který gel netvoří. V porovnání s ostatními fykokoloidy nevyžaduje agar pro tvorbu gelu přítomnost kationtů a díky nižšímu stupni sulfatace má vzniklý gel větší pevnost a vyšší teplotu tání než karagenan¹⁸. Hojně se využívá v potravinářském průmyslu jako stabilizátor, emulgátor či ztužovač a v kosmetickém průmyslu jako zvlhčovací složka. V biotechnologii je agar součástí živných půd a agarosa se používá k elektroforetické separaci nukleových kyselin nebo jako stacionární fáze u chromatografických technik¹⁷. Za povšimnutí také stojí možné využití modifikovaného agaru jako biodegradabilního obalového materiálu¹⁸.

2.3. Polysacharidy zelených řas – ulvany

Nejčastějšími stavebními prvky ulvanu jsou buď β -D-glukuronová kyselina nebo α -L-iduronová kyselina navá-

zaná na α -L-rhamnosu-3-sulfát (1,4)-glykosidovou vazbou. Tyto polysacharidy mají unikátní komplexní mechanismus tvorby termostabilních gelů, který doposud nebyl přesně popsán a je ovlivněn pH, teplotou a přítomností bivalentních iontů či kyseliny borité¹⁵. Ulvany jsou strukturně podobné savčím glykosaminoglykanům a tudíž je u nich velká pravděpodobnost celé řady biologických účinků. Velmi slibnou aplikací ulvanu je výroba vakcín, neboť jeho přidavek do vakcín zvyšuje účinnost očkování až o 100 % (cit.¹⁸). Další využití nachází v zemědělství díky schopnosti aktivovat rostlinné obranné mechanismy indukci signální dráhy kyseliny jasmonové, která představuje účinný fytohormon²⁴.

3. Lipidy

Řasy jsou bohatým zdrojem lipidů, přičemž nejhojněji jsou zastoupeny membránové lipidy, ale nalezneme v nich i další skupiny lipidů jako například terpenoidy, sfingolipidy, steroly či pigmenty. Dále řasy obsahují celou řadu netradičních lipidů, jako například halogenované mastné kyseliny či fosfatidylsulfocholin, které jsou většinou druhově specifické²⁵. Z hlediska využití biologicky aktivních látek jsou nejzajímavější terpenoidy a polynenasycené mastné kyseliny¹².

3.1. Polynenasycené mastné kyseliny

Polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), konkrétně ω -3 a ω -6 PUFA, jsou pro člověka a řadu dalších organismů esenciální, a tudíž musí být přijímány v potravě. Primárními zástupci těchto skupin je kyselina linolová (18:2n-6) a linolenová (18:3n-3), které mohou být v lidském těle dále přeměněny pomocí desaturas a elongas na kyselinu arachidonovou (20:4n-6), eikosapentaenovou (20:5n-3) či dokosaheptaenovou (22:6n-3) (cit.²⁶). PUFA s dlouhými řetězci (20–22 C) jsou prekurzory řady signálních molekul zvaných eikosanoidy²⁷. Velmi zjednodušeně je možné říct, že signální molekuly vycházející z ω -6 PUFA mají prozánětlivé účinky, zatímco z ω -3 PUFA protizánětlivé účinky²⁶. Avšak nejnovější studie naznačují, že tato přeměna je značně limitovaná, a proto je nezbytné PUFA s dlouhými řetězci také přijímat z potravy. Nedostatek či nesprávný poměr PUFA může vést k celé řadě závažných onemocnění zejména chronického zánětlivého původu, kam se řadí například artritida, kardiovaskulární, neurodegenerativní či autoimunitní onemocnění². Doposud byly hlavními zdroji PUFA v potravě rybí tuky, avšak primárními producenty těchto mastných kyselin jsou řasy (především mořské mikroskopické řasy rodu *Nannochloropsis*), které rybí tuk s největší pravděpodobností v budoucnu kompletně nahradí²⁸. Závěrem ještě dodejme, že ω -3 PUFA jsou hlavní složkou membrány neuronů, a tudíž jsou nezbytné pro správný vývoj mozku. Z tohoto důvodu jsou poslední desetiletí ω -3 PUFA izolované z tuku mořských ryb součástí umělé výživy novorozenců a v poslední době začínají být nahrazovány ω -3 PUFA z mořských řas²⁷.

3.2. Terpenoidy

Terpenoidy představují jednu z nepočtenějších a nejrozmanitějších skupin přírodních produktů, přičemž do dnešního dne bylo izolováno více než 70 000 různých terpenoidů²⁹. Nalezneme je ve všech organismech, zejména však v rostlinách, neboť jsou nedílnou součástí elektro-nového transportního řetězce, buněčných membrán, světlosběrných systémů a účastní se řady obranných reakcí³⁰. Na základě počtu isoprenových jednotek se dělí na hemiterpeny (C5), monoterpeny (C10), seskviterpeny (C15), diterpeny (C20), triterpeny (C30), tetraterpeny (C40) a polyterpeny s ještě vyšším počtem isoprenových jednotek¹⁷. Prekurzory terpenoidů jsou syntetizovány buď dobře známou mevalonovou dráhou nebo 2-C-methyl-D-erythritol-4-fosfátovou dráhou, která je hlavním zdrojem terpenoidů právě u řas³⁰. V dnešní době terpenoidy tvoří 60–75 % léčiv využívaných k léčbě infekčních onemocnění a rakoviny, a to díky hojným biologickým funkcím, mezi něž patří antimalarické, protirakovinné, antibiotické, protizánětlivé, antinociceptivní, antivirové a hepatoprotektivní účinky¹². Řada těchto účinků vychází z inhibice NF- κ B signalizace. Ačkoliv jsou řasy dobrým zdrojem terpenoidů, většina biologicky aktivních látek na trhu pochází z vyšších rostlin³¹. Přestože u terpenoidů izolovaných z řas (zejména ruduch, ale i chaluhy a zelených řas) a případně sinic byly prokázány stejné biologické účinky a nalezneme zde řadu strukturně unikátních terpenoidů, většina studií je soustředěna spíše na využití řas jako systémů pro rekombinantní produkci rostlinných terpenoidů^{12,29}.

4. Pigmenty

V řasách nalezneme široké spektrum pigmentů, které jim propůjčují jejich specifické zbarvení. Patří mezi ně chlorofyly, karotenoidy, fykobiliproteiny a scytonemin³². Potravinářský, kosmetický a textilní průmysl pomalu nahrazuje syntetická barviva, která mohou mít škodlivé účinky jak na lidské zdraví, tak i na životní prostředí, přírodními barvivy. Pigmenty z řas představují udržitelný zdroj přírodních barviv, která jsou na rozdíl od syntetických barviv zdraví prospěšná³³. Dále díky hojným biologickým účinkům (za zmínku stojí zejména velmi silná antioxidační aktivita) nacházejí pigmenty své uplatnění i ve farmaceutickém průmyslu³⁴, konkrétně při potlačování nežádoucích vlivů oxidativního stresu, který se podílí na rozvoji řady onemocnění včetně diabetu, rakoviny a neurodegenerativních onemocnění³⁵.

4.1. Chlorofyly

Chlorofyly patří k fotosyntetickým pigmentům a na-jdeme je jak ve vyšších rostlinách, tak i řasách. Základem struktury je porfyrinový kruh s centrálně vázaným atomem Mg²⁺ a dlouhý uhlovodíkový řetězec (fytol)³⁴. Existuje několik forem chlorofylu, označovaných *a*, *b*, *c*, *d*, *e* a *f*,

kteří se liší funkční skupinou a její lokalizací v rámci porfyrinového kruhu, což ovlivňuje jejich absorpční spektrum. Nejdůležitější pro fotosyntézu obecně je chlorofyl *a*, který se nachází ve všech fotosyntetizujících organismech. Vyšší rostliny a zelené řasy obsahují chlorofyl *a* a *b* často v poměru 3:1, hnědé řasy obsahují chlorofyl *a* a *c* a červené řasy pouze formu *a*. Ačkoliv chlorofyly nacházejí uplatnění ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu, pro své antioxidační, antibakteriální, hojivé, protizánětlivé či protirakovinné účinky, využívají se zejména jako barviva v potravinářském průmyslu³². Nejčastěji se jako zelená barviva využívají chlorofyly *a* a *b* a jejich feofytiny. Hlavními nevýhodami využití přírodních chlorofylů jako barviv je jejich nestabilita a špatná rozpustnost, které mohou být eliminovány modifikacemi jejich struktury. Za účelem zvýšení stability se nahrazuje centrálně vázaný atom Mg²⁺ atomem Cu²⁺ a vyšší rozpustnosti se dosáhne hydrolýzou fytolového řetězce³⁶.

4.2. Karotenoidy

Chlorofyly jsou většinou doprovázeny karotenoidy, které absorbují odlišnou část světelného spektra a zároveň chrání fotosyntetický aparát před nadbytkem slunečního záření. Jedná se o deriváty tetraterpenů a můžeme je dále dělit na karoteny a xanthofyly³⁵. Karoteny neobsahují ve své struktuře molekulu kyslíku, jedná se o vysoce nenasyčené alifatické a alicyklické uhlovodíky. Xanthofyly naopak obsahují ve své struktuře kyslík, a to v podobě hydroxylové, epoxidové, karbonylové, karboxylové nebo methoxy skupiny. Dále mohou obsahovat unikátní allenovou skupinu či acetylenovou skupinu, která se vyskytuje pouze v řasách. Často obsahují i několik funkčních skupin zároveň³⁷. Vzhledem k tomu, že lidé ani zvířata nedokáží syntetizovat karotenoidy *de novo*, je nezbytné je získávat z potravy, přičemž některé z nich slouží jako prekurzory vitamínu A, konkrétně β -karoten, β -kryptoxanthin a α -karoten. β -Karoten je nejúčinnější provitamin A, neboť z každé molekuly β -karotenu vznikají dvě molekuly retinalu³⁸. Karotenoidy patří mezi velmi silné antioxidanty schopné zhaset reaktivní formy kyslíku včetně singletového kyslíku. Zatímco jejich schopnost zhaset singletový kyslík vzrůstá s počtem konjugovaných dvojných vazeb, antioxidační aktivita vzrůstá s počtem funkčních skupin v terminálních cyklech³⁹. Mezi důkladně prozkoumané a z hlediska biologických aktivit zajímavé patří astaxanthin a fukoxanthin. Fukoxanthin, který se vyskytuje zejména v hnědých řasách a rozsivkách, je považován za nejhojnější karotenoid v přírodě^{40,41}. Astaxanthin i fukoxanthin mají celou řadu biologických aktivit, přičemž nejvýznamnější jsou jejich antioxidační, fotoprotektivní, protizánětlivé a protirakovinné účinky¹². Zatímco astaxanthin má neuroprotektivní účinky díky kombinaci silné antioxidační aktivity a schopnosti snadno přecházet přes hematoencefalickou membránu⁴², fukoxanthin snižuje množství tělesného tuku ovlivněním hladiny thermogeninu, syntézy mastných kyselin, lipolýzy a žaludečního mikrobiomu^{38,39,43}.

4.3. Fykobiliproteiny

Fykobiliproteiny jsou součástí velkého doprovodného světlosběrného komplexu zvaného fykobilisom a nachází se výhradně v sinicích a ruduchách. Na základě jejich spektrálních vlastností rozlišujeme čtyři typy: fykoerytrin ($\lambda_{\max} = 490\text{--}570\text{ nm}$), fykocyanin ($\lambda_{\max} = 610\text{--}625\text{ nm}$), allofykocyanin ($\lambda_{\max} = 650\text{--}660\text{ nm}$) a fykoerytrocyanin ($\lambda_{\max} = 560\text{--}600\text{ nm}$)⁴⁴. Kromě proteinové části obsahují fykobiliproteiny také fykobiliny, což jsou otevřené tetrapyrrolové chromofory zodpovědné za zachyt světelného záření, které jsou kovalentně navázány thioetherovou vazbou na specifická cysteinová rezidua⁴⁵. Díky těmto vysoce účinným světlosběrným komplexům dokáží tyto řasy přežívat i v hlubokých vodách, kam proniká zejména modrozelené světlo o nízké intenzitě⁴⁶. Fykocyanobilin se používá jako modré barvivo v potravinářském průmyslu. Fykobiliproteiny by také mohly nalézt uplatnění ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu, a to díky antioxidačním, protizánětlivým a protirakovinným účinkům. Například fykocyanin je schopen inhibovat prozánětlivý transkripční faktor NF- κ B i aktivitu cyklooxygenasy-2, která je zodpovědná za tvorbu dalších prozánětlivých mediátorů⁴⁴. Protirakovinné účinky fykocyaninu jsou dány jeho schopností indukovat apoptózu a zastavit proliferaci rakovinných buněk. Navíc mohou být fykobiliproteiny využity k fotodynamické terapii⁴⁶. Další uplatnění našly fykobiliproteiny jako fluorescenční sondy v cytometrii, fluorescenční mikroskopii a imunometodách³².

4.4. Scytonemin

Scytonemin je žlutohnědý pigment přítomný v extracelulární matrix některých sinic. Strukturně se jedná o indolový alkaloid, vzniklý kondenzací podjednotek odvozených od tyrosinu a tryptofanu³⁵. Scytonemin existuje buď v redukované, nebo oxidované formě v závislosti na redoxních podmínkách. Komplexní cyklická struktura umožňuje silnou absorpci UV záření s maximem okolo 370 nm (cit.³²). V sinicích je syntetizován v rámci obranné reakce na stresové faktory, zejména na zvýšenou expozici UV záření či na nedostatek živin. Velkou výhodou scytoneminu je jeho vysoká stabilita, díky které chrání sinice i v momentu, kdy ostatní obranné mechanismy selžou⁴⁷. Díky silným fotoprotektivním, antioxidačním a protizánětlivým účinkům a současně lipofilní povaze by mohl najít uplatnění v kosmetickém průmyslu jako součást opalovacích krémů⁴⁸.

5. Proteiny a látky odvozené od aminokyselin

Některé řasy jsou skvělým alternativním zdrojem proteinů pro stále rostoucí populaci. Zároveň v nich byly objeveny i proteiny s biologickými účinky jako například výše zmíněné fykobiliproteiny, dále pak lektiny či biologicky aktivní peptidy, vznikající hydrolýzou původních proteinů bez biologických účinků⁴⁹. Velmi zajímavou skupinou biologicky aktivních látek, která zde bude podrobněji popsána, jsou mykosporinu podobné aminokyseliny¹⁷.

5.1. Mykosporinu podobné aminokyseliny

Mykosporinu podobné aminokyseliny (MAA) jsou nízkomolekulární amfolyty, které nalezneme ve vodních organismech, které jsou vystaveny vysokým hodnotám UV záření. Největší množství a také diverzitu MAA nalezneme v červených řasách⁵⁰. Základním stavebním prvkem je chromofor, buď cyklohexenon nebo cyklohexenimin, který je dále konjugován s jednou nebo dvěma aminokyselinami, případně aminoalkoholy⁵¹. Tyto látky jsou syntetizovány prostřednictvím šikimátové dráhy. MAA jsou považovány za nejúčinnější přírodní UV-A absorbující látky, jež mají absorpční maximum v rozmezí 310 až 362 nm a vysoký molární absorpční koeficient. Doposud je známo více než 30 různých MAA (cit.^{51,52}). Vyjma silné fotoprotektivní funkce také hrají roli v obraně vůči dalším abiotickým stresovým faktorům, například zvýšené salinitě⁴⁷. MAA mají celou řadu biologických účinků, jejichž aplikace se zabývá více než 60 patentů. Komerční využití našly tyto látky jako součást opalovacích krémů, konkrétně HelioGuard® 365 a Helionori®, které kromě ochrany proti UV záření také zpomalují stárnutí pleti^{50,51}. Mechanismus jejich účinku spočívá v ochraně DNA před poškozením, omezení neenzymové glykosylace proteinů, inhibici proteas podílejících se na stárnutí (např. kolagenas a elastas) a dále i v jejich antioxidačním a protizánětlivém působení⁵².

5.2. Lektiny

Lektiny představují rozmanitou skupinu proteinů, které se s vysokou mírou specifity reverzibilně vážou na sacharidy ať už volné, nebo ve formě glykokonjugátů. Lektiny nalezneme v široké škále organismů včetně řas (ruduch, chaluh i zelených řas) a sinic⁵³. Lektiny přítomné v řasách se významně odlišují od rostlinných lektinů, jelikož jsou to ve většině případů monomerní, nízkomolekulární proteiny s vyšším obsahem kyselých aminokyselin, jejichž aktivita není závislá na přítomnosti iontů kovů. Dále téměř výhradně interagují s glykoproteiny⁵⁴. Stejně jako rostlinné lektiny, mají i lektiny přítomné v řasách celou řadu biologických účinků. K nejvýznamnějším patří antivirové působení vůči široké škále virů, neboť zabráňují vstupu viru do hostitelské buňky navázáním lektinů na glykoproteiny přítomné na povrchu virů^{54,55}. Dále by mohly sloužit jako diagnostický nástroj pro včasné odhalení rakoviny, protože hned několik lektinů z řas specificky rozpoznává pozměněnou fukosylaci glykanů, typickou pro rakovinné buňky. Zároveň u nich byly popsány antinociceptivní, protizánětlivé, protirakovinné a antibakteriální účinky. Jejich schopnost specifické vazby na cílovou molekulu by bylo možné dále využít pro cílený transport léčiv^{53,54}.

5.3. Bioaktivní peptidy

Bioaktivní peptidy s biologickými účinky podobnými hormonům tradičně obsahují 2–20 aminokyselin a vznikají hydrolýzou biologicky neaktivního proteinu. U peptidů získaných z chaluh, ruduch i zelených řas byly popsány

antioxidační, protirakovinné, antihypertenzní, antiaterosklerotické, imunomodulační, fotoprotektivní, antikoagulační a antiosteoporózní účinky^{12,56}. Přesný mechanismus působení peptidů s protirakovinnými účinky musí být ještě podrobně prostudován, ale doposud je známo, že jsou schopné zastavit buněčný cyklus, iniciovat apoptózu a inhibovat angiogenezi. Antihypertenzní účinky jsou dány inhibicí angiotenzin konvertujícího enzymu a reninu. Imunomodulační peptidy aktivují jak vrozenou, tak i získanou imunitu, zvyšují počet lymfocytů, monocytů a granulocytů a zároveň modulují hladiny cytokinů. Veškeré dosud objevené mechanismy účinků jsou shrnuty v řadě přehledových článků^{12,56,57}.

6. Fenolické látky

Tyto chemické sloučeniny, hojně zastoupené v rostlinné říši včetně řas, jsou charakterizované přítomností minimálně jedné fenolové jednotky. Fenolické látky hrají důležitou roli v životním cyklu řas a také jsou nepostradatelnou součástí jejich obranných mechanismů^{39,58}. Jejich silné antioxidační účinky jsou spojeny s řadou dalších biologických aktivit. Ačkoliv byla v řasách popsána přítomnost různých fenolických látek, často s unikátní strukturou, veškerý výzkum je soustředěn pouze na florotaniny. Florotaniny představují jeden ze tří typů taninů a nacházejí se výhradně v hnědých mořských řasách^{12,58}. Jedná se o polymery floriglucinu a jsou to produkty acetát-malonátové dráhy. Na základě typu vazeb se dělí do čtyř skupin: 1) fuhaloly a floreoetholy (etherové vazby), 2) fukoly (fenylové vazby), 3) fukofloroetholy (etherové a fenylové vazby) a 4) eckoly (vazby typu dibenzo-1,4-dioxin)³⁵. V rámci buněk se nacházejí buď ve váčcích zvaných fysody nebo navázané na polysacharidy buněčné stěny⁵⁹. Antioxidační aktivita florotaniinů je dána jejich schopností vychytávat volné radikály a dále jejich redukcí a chelatačními účinky³⁵. Florotaniny absorbují UV záření v rozmezí vlnových délek 200–300 nm a tudíž chrání řasy před jeho fototoxickými účinky⁵⁹. Kromě zde již mnohokrát popsaných antioxidačních, protirakovinných, protizánětlivých a antibakteriálních účinků je obzvlášť zajímavá jejich schopnost inhibovat enzymovou aktivitu enzymů, které jsou cílem řady léčiv, neboť hrají důležitou roli ve vývoji vážných onemocnění. Často tyto enzymy inhibují lépe než dostupná léčiva na trhu. Jako příklad mohou sloužit inhibitory hyaluronidasy (účastní se alergických reakcí, tvorby metastáz a zánětlivých procesů), tyrosinasy (hraje roli v poruchách pigmentace) či α -amylasy a α -glukosidasy (ovlivňují vznik hyperglykémie u diabetes mellitus typu 2)⁶⁰. Dále inhibují cholinesterasy, což je principem léčby Alzheimerovy choroby. Taktéž by mohly být využity k léčbě AIDS, jelikož inhibují replikaci viru HIV⁶¹.

7. Alkaloidy

Alkaloidy jsou heterocyklické sloučeniny, které obsahují jeden či více atomů dusíku, které jsou součástí cyklu. Ačkoliv jsou alkaloidy předmětem řady studií díky jejich

významným farmakologickým aktivitám, pouze hrstka z nich se věnuje alkaloidům přítomným v řasách. První alkaloid izolovaný z řas (hordenin) byl izolován v roce 1969 z ruduchy. Alkaloidy mořských řas můžeme na základě struktury rozdělit na dvě hlavní skupiny: 1) alkaloidy odvozené od fenylethylaminu nacházející se zejména v ruduchách a 2) indolové alkaloidy vyskytující se převážně v zelených řasách a ruduchách. Indolové alkaloidy jsou často halogenovány, což je jev unikátní pouze pro mořské organismy a řasy⁶². U alkaloidů z řas byly doposud deklarovány antibakteriální, antimykotické, antioxidační, antinociceptivní, protizánětlivé, protirakovinné a neuroprotektivní účinky¹². Například výše zmíněný hordenin inhibuje monoaminoxidasu B, čímž zvyšuje hladinu norepinefrinu a také inhibuje pyruvátdehydrogenasas 3, která hraje důležitou roli v progresi rakoviny⁶³.

8. Závěr

Není pochyb, že mořské řasy jsou skvělým zdrojem velmi účinných biologicky aktivních látek. Velká část jejich biologických účinků však byla dosud prokázána pouze na základě *in vitro* testů. Pro jejich budoucí komerční využití je ovšem potřeba potvrdit tyto aktivity v systémech *in vivo* i klinických testech. Jejich praktické použití navíc komplikuje i neuvěřitelná strukturní variabilita těchto biologicky aktivních molekul, závislá na růstových podmínkách řas. Prozatím je na trhu dostupný pouze jeden léčivý přípravek pocházející z řas, a to již zmiňované antivirotikum Carragelose[®]. Ostatní biologicky aktivní produkty řas jsou součástí potravinových doplňků a kosmetických přípravků. Aby bylo možné rozšířit sortiment léčivých přípravků na trhu, je nezbytné vylepšit kultivační a extrakční postupy, tak aby se dlouhodobě zajistily produkty s deklarovanou strukturou i účinky.

LITERATURA

1. Pangestuti R., Siahaan E. A., Kim S.-K.: *Mar. Drugs* 16, 399 (2018).
2. Sahoo D., Seckbach J. (ed.): *The Algae World*. Springer, Dordrecht 2015.
3. Burki F., Roger A. J., Brown M. W., Simpson A. G. B.: *Trends Ecol. Evol.* 35, 43 (2020).
4. Rasul I., Azeem F., Siddique M. H., Muzammil S., Rasul A., Munawar A., Afzal M., Ali M. A., Nadeem H., v knize: *Algae Based Polymers, Blends, and Composites* (Zia K. M., Zuber M., Ali M., ed.), kap. 8, str. 301. Elsevier, Amsterdam 2017.
5. Adl S. M. a 46 spoluautorů: *J. Eukaryotic Microbiol.* 66, 4 (2019).
6. Cabrita M. T., Vale C., Rauter A. P.: *Mar. Drugs* 8, 2301 (2010).
7. Aquino R. S., Grativol C., Mourão P. A. S.: *PLoS One* 6, e18862 (2011).
8. Mandrekar V. K., Gawas U. B., Majik M. S., v knize: *Studies in Natural Products Chemistry* (Atta-ur-Rahman, ed.), kap. 13, str. 461. Elsevier, Amsterdam 2019.

9. Cunha L., Grenha A.: *Mar. Drugs* 14, 42 (2016).
10. Michalak I., Chojnacka K.: *Eng. Life Sci.* 15, 160 (2015).
11. Stadnik M. J., Freitas M. B.: *Trop. Plant Pathol.* 39, 111 (2014).
12. Rengasamy K. R., Mahomoodally M. F., Aumeeruddy M. Z., Zengin G., Xiao J., Kim D. H.: *Food Chem. Toxicol.* 135, 111013 (2020).
13. Markou G., Nerantzis E.: *Biotechnol. Adv.* 31, 1532 (2013).
14. Bělohlov V., Jirout T., Krátký L.: *Chem. Listy* 112, 183 (2018).
15. Usman A., Khalid S., Usman A., Hussain Z., Wang Y., v knize: *Algae Based Polymers, Blends, and Composites* (Zia K. M., Zuber M., Ali M., ed.), kap. 5, str. 115. Elsevier, Amsterdam 2017.
16. Synytsya A., Čopíková J., Kim W. J., Park Y. I., v knize: *Springer Handbook of Marine Biotechnology* (Kim S.-K., ed.), kap. 22, str. 543. Springer, Berlín 2015.
17. Singh R., Parihar P., Singh M., Bajguz A., Kumar J., Singh S., Singh V. P., Prasad S. M.: *Front. Microbiol.* 8, 515 (2017).
18. Olatunji O. (ed.): *Aquatic Biopolymers: Understanding their Industrial Significance and Environmental Implications*. Springer, Cham 2020.
19. Senthilkumar K., Ramajayam G., Venkatesan J., Kim S.-K., Ahn B.-C., v knize: *Seaweed Polysaccharides* (Venkatesan J., Anil S., Kim S.-K., ed.), kap. 14, str. 269. Elsevier, Amsterdam 2017.
20. Cho M. L., Lee B.-Y., You S.: *Molecules* 16, 291 (2010).
21. Zargarzadeh M., Amaral A. J. R., Custódio C. A., Mano J. F.: *Carbohydr. Polym.* 232, 115774 (2020).
22. Jönsson M., Allahgholi L., Sardari R. R., Hreggviðsson G. O., Nordberg Karlsson E.: *Molecules* 25, 930 (2020).
23. Alves C., Silva J., Pinteus S., Gaspar H., Alpoim M. C., Botana L. M., Pedrosa R.: *Front. Pharmacol.* 9, 777 (2018).
24. Kidgell J. T., Magnusson M., de Nys R., Glasson C. R. K.: *Algal Res.* 39, 101422 (2019).
25. Li-Beisson Y., Thelen J. J., Fedosejevs E., Harwood J. L.: *Prog. Lipid Res.* 74, 31 (2019).
26. Harwood J. L.: *Biomolecules* 9, 708 (2019).
27. Zárate R., el Jaber-Vazdekis N., Tejera N., Pérez J. A., Rodríguez C.: *Clin. Transl. Med.* 6, 25 (2017).
28. Adarme-Vega T. C., Lim D. K. Y., Timmins M., Vernen F., Li Y., Schenk P. M.: *Microb. Cell Fact.* 11, 96 (2012).
29. Vavitsas K., Fabris M., Vickers C. E.: *Genes* 9, 520 (2018).
30. Pattanaik B., Lindberg P.: *Life (Basel, Switz.)* 5, 269 (2015).
31. Ludwiczuk A., Skalicka-Woźniak K., Georgiev M., v knize: *Pharmacognosy* (Badal S., Delgoda R., ed.), kap. 11, str. 233. Elsevier, Amsterdam 2017.
32. Mandal M. K., Chanu Ng. K., Chaurasia N., v knize: *Advances in Cyanobacterial Biology* (Singh P. K., Kumar A., Singh V. K., Shrivastava A. K., ed.), kap. 5, str. 55. Academic Press, Londýn 2020.
33. Alam T., Najam L., Al-Harrasi A.: *Journal of Agricultural and Marine Sciences* 23, 81 (2018).
34. Pangestuti R., Kim S.-K.: *J. Funct. Foods* 3, 255 (2011).
35. Sonani R. R., Rastogi R. P., Madamwar D., v knize: *Algal Green Chemistry* (Rastogi R. P., Madamwar D., Pandey A., ed.), kap. 5, str. 91. Elsevier, Amsterdam 2017.
36. Fernandez A. S., Nass P. P., Oliviera Á., Zepka L. Q., v knize: *Pigments from Microalgae Handbook* (Jacob-Lopez E., Queiroz M. I., Zepka L. Q., ed.), kap. 16, str. 391. Springer, Cham 2020.
37. de Jesus Raposo M. F., de Moraes A. M. M. B., de Moraes R. M. S. C.: *Mar. Drugs* 13, 5128 (2015).
38. Christaki E., Bonos E., Giannenas I., Florou-Paneri P.: *J. Sci. Food Agric.* 93, 5 (2013).
39. Miyashita K., v knize: *Antioxidants and Functional Components in Aquatic Foods* (Kristinsson H. G., ed.), kap. 8, str. 219. John Wiley & Sons, Chichester 2014.
40. Fakhri S., Abbaszadeh F., Dargahi L., Jorjani M.: *Pharmacol. Res.* 136, 1 (2018).
41. Guvatova Z., Dalina A., Marusich E., Pudova E., Snezhkina A., Krasnov G., Kudryavtseva A., Leonov S., Moskalev A.: *Mech. Ageing Dev.* 189, 111260 (2020).
42. Galasso C., Orefice I., Pellone P., Cirino P., Miele R., Ianora A., Brunet C., Sansone C.: *Mar. Drugs* 16, 247 (2018).
43. Liu M., Li W., Chen Y., Wan X., Wang J.: *Life Sci.* 255, 117850 (2020).
44. Pagels F., Guedes A. C., Amaro H. M., Kijjoa A., Vasconcelos V.: *Biotechnol. Adv.* 37, 422 (2019).
45. Kannaujiya V. K., Sundaram S., Sinha R. P., v knize: *Phycobiliproteins: Recent Developments and Future Applications* (Kannaujiya V. K., Sundaram S., Sinha R. P., ed.), kap. 2, str. 21. Springer, Singapore 2017.
46. Li W., Su H.-N., Pu Y., Chen J., Liu L.-N., Liu Q., Qin S.: *Biotechnol. Adv.* 37, 340 (2019).
47. Fuentes-Tristan S., Parra-Saldivar R., Iqbal H. M. N., Carrillo-Nieves D.: *J. Photochem. Photobiol., B* 201, 111684 (2019).
48. Kang M. R. a 11 spoluautorů: *Mar. Drugs* 18, 300 (2020).
49. Bleakley S., Hayes M.: *Foods* 6, 33 (2017).
50. Rosic N. N.: *Mar. Drugs* 17, 638 (2019).
51. Chrapusta E., Kaminski A., Duchnik K., Bober B., Adamski M., Bialezyk J.: *Mar. Drugs* 15, 326 (2017).
52. Kageyama H., Waditee-Sirisattha R.: *Mar. Drugs* 17, 222 (2019).
53. Singh R. S., Walia A. K.: *J. Appl. Phycol.* 30, 1833 (2018).
54. Singh R. S., Thakur S. R., Bansal P.: *Crit. Rev. Microbiol.* 41, 77 (2015).
55. Barre A., Simplicien M., Benoist H., Van Damme E. J. M., Rougé P.: *Mar. Drugs* 17, 440 (2019).

56. Fan X., Bai L., Zhu L., Yang L., Zhang X.: J. Agric. Food Chem. 62, 9211 (2014).
57. Samarakoon K., Jeon Y.-J.: Food Res. Int. 48, 948 (2012).
58. Freile-Pelegrín Y., Robledo D., v knize: *Bioactive Compounds from Marine Foods* (Hernández-Ledesma B., Herrero M., ed.), kap. 6, str. 113. John Wiley & Sons, Chichester 2013.
59. Gómez I., Huovinen P., v knize: *Antarctic Seaweeds: Diversity, Adaptation and Ecosystem Services* (Gómez I., Huovinen P., ed.), kap. 18, str. 365. Springer International Publishing, Cham 2020.
60. Imbs T. I., Zvyagintseva T. N.: Russ. J. Mar. Biol. 44, 263 (2018).
61. Li Y.-X., Wijesekara I., Li Y., Kim S.-K.: Process Biochem. (Oxford, U. K.) 46, 2219 (2011).
62. Güven K. C., Percot A., Sezik E.: Mar. Drugs 8, 269 (2010).
63. Anwar S. a 10 spoluautorů: Biomedicines 8, 119 (2020).

T. Přerovská, E. Benešová, and P. Lipovová
(Department of biochemistry a microbiology, UCT Prague, Prague): **Biologically Active Compounds from Marine Algae**

Natural products have been used as treatment of various diseases from time immemorial and even nowadays majority of commercially available drugs on the market are derived from natural compounds. Ocean provides a home to a number of marine organisms including algae and shelter endless sources of new natural biologically active compounds. Marine algae had to cope with harsh stress conditions, which gave them outstanding variability and made them one of the major sources of compounds with unique chemical features and with exceptional biological activity. Amongst these compounds belong sulphated polysaccharides, special pigments, halogenated compounds, mycosporine-like amino acids and many other compounds beneficial to human health. Despite the tremendous amount of publications declaring impressive biological activities of algal compounds, so far only one of them was approved as antiviral drug. Nevertheless, with the advancements in technology, soon other will follow.

Full text English translation available in the on-line version.

Keywords: algae, cyanobacteria, biologically active compounds

ROD *Monascus* A JEHO SEKUNDÁRNÍ METABOLITY

MARKÉTA HUSÁKOVÁ

Ústav biotechnologie, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
husakovm@vscht.cz

Došlo 14.12.20, přijato 1.2.21.

Klíčová slova: rod *Monascus*, sekundární metabolity,
monakoliny, citrinin, pigmenty, biologická aktivita

Obsah

1. Úvod
2. Rod *Monascus*
 - 2.1. Charakteristika rodu
 - 2.2. Výskyt a druhové zastoupení
3. Metabolity
 - 3.1. Monakoliny
 - 3.2. Citrinin
 - 3.3. Pigmenty
 - 3.4. Dimerumová kyselina
 - 3.5. γ -Aminomáselná kyselina
4. Závěr

1. Úvod

Rod *Monascus* patří do říše Fungi, jedná se o vláknité mikromycety tvořící hyalinní až hnědě zbarvené mycelium. Přestože byl tento rod poprvé popsán až v 19. století, je v Asii (hlavně Číně, Japonsku, Thajsku a Indonésii) znám a využíván již po staletí. Tradičně se používá k produkci fermentovaných potravin, jako součást čínské medicíny nebo jako potravinářské barvivo. Nejvýznamnějším produktem je fermentovaná rýže, označovaná jako MFR (*Monascus-fermented rice*)¹. Zástupci rodu produkují různé sekundární metabolity, nejvýznamnější jsou azafilony, nové pigmenty, monakoliny a mykotoxin citrinin. Roční produkce pigmentů produkovaných houbou *Monascus* je jen v Číně 20 000 tun. Uvádí se, že více než miliarda lidí konzumuje produkty fermentované houbou *Monascus* každý den².

2. Rod *Monascus*

Rod *Monascus* byl poprvé popsán a definován francouzským botanikem van Tieghemem v roce 1884 (cit.³). Rod taxonomicky patří do říše Fungi, kmene Ascomycota, třídy Eurotiomycetes, řádu Eurotiales a čeledi Mo-

nascaceae⁴, v některé literatuře je rod řazen do čeledi Aspergillaceae⁵. Nejblíže fylogeneticky příbuzné rodu *Monascus* jsou xerofilní rody *Xerochrysium*, *Xeromyces* a také rod *Leiothecium*. Typovým druhem je *Monascus ruber* van Tieghem⁵.

Označení rodu jako *Monascus* naznačuje, že zástupci tohoto rodu se pohlavně rozmnožují prostřednictvím jednobuněčného vřetka (neboli monoasku), což však platí pouze výjimečně u některých kmenů⁶.

Nejstarší doložená zmínka o rýžových produktech fermentovaných houbou *Monascus* pochází z období dynastie Song (16. století), jedná se o tzv. Jiuqu nebo Qu, tedy startovací kulturu pro výrobu rýžového vína. Kromě zástupců rodu *Monascus* obsahovaly startovací kultury a využitá rýžová zrna i rod *Rhizopus*, *Mucor*, *Aspergillus* a některé druhy kvasinek⁷. Nejvýznamnějším produktem využívajícím houbu *Monascus* je bezesporu fermentovaná rýže, označovaná jako MFR (*Monascus-fermented rice*), Hung-Chu, Hong Qu, Ang-kak, Ankak rice, Red yeast rice, Red mold rice nebo Beni-Koji¹. Kromě fermentace rýže se houba *Monascus* používá také k fermentaci sójových bobů nebo jako konzervant a barvivo používané při výrobě masných výrobků⁷.

2.1. Charakteristika rodu

Zástupci rodu *Monascus* v závislosti na kmenu tvoří hyalinní až hnědé mycelium a liší se rychlostí růstu v různých médiích a schopností produkce jednotlivých sekundárních metabolitů^{8,9}. Zástupci rodu *Monascus* jsou aerobní, mezofilní organismy vyznačující se respiračně-fermentativním metabolismem, při nadbytku glukosy za aerobních podmínek produkují ethanol¹⁰. Produkují amylolytické, proteolytické, lipolytické a celulólytické enzymy, jsou proto schopny využívat širokou škálu substrátů, včetně například celulosy (*M. ruber*)¹¹.

Většina zástupců rodu *Monascus* jsou homothalické kmeny rozmnožující se pohlavně, jedná se tedy o telemorfa. Nepohlavně se rozmnožující forma (anamorfa) je nazývána *Basipetospora*. Rozmnožování probíhá pohlavně prostřednictvím askospor, askospory mají oválný tvar. Nepohlavní rozmnožování probíhá prostřednictvím jednobuněčných kulatých konidií (obr. 1)⁵. Při pohlavním rozmnožování se askospory vytváří v askokarpu. Askokarp, v případě rodu *Monascus* se jedná o kleistothecium, vzniká v různých velikostech s různým počtem askospor¹². Po rozrušení askokarpu jsou spory uvolněny a po vyklíčení vytváří nové hyfy. Na různou velikost kleistothecií a počet askospor v nich má vliv počet jader v askogonech (samičí gametangia). Pokud obsahují menší počet jader, tak dochází ke vzniku méně askogenních hyf. Dále pak při vývoji asků z askogenních hyf může u některých asků docházet k degradaci^{12,13}.



Obr. 1. Mikroskopický snímek kleistothecia (zralé (a), nezralé (b)) a konidií (c) kmene *Monascus purpureus* CBS 109.07, zvětšeno 400×

2.2. Výskyt a druhové zastoupení

Zástupce rodu *Monascus* můžeme nalézt hlavně jako kontaminanty potravin bohatých na škrob. Nejčastěji se jedná o houby fermentující rýži, vyskytují se také jako kontaminanty obilnin a jiných škrobnatých i neškrobnatých plodin. Nalézt je kromě potravin můžeme také v silážích či jiných zemědělských produktech^{7,14}. Jsou však popsány i izoláty získané z říčního sedimentu¹⁵, půdy¹⁴, rostlinných tkání¹⁶ nebo z medu, pylu a hnízd bezžihadlových včel (*Melipona scutellaris*)¹⁷.

V roce 1985 britský mykolog David L. Hawksworth definoval tři zástupce rodu, *Monascus pilosus* K. Sato, *Monascus purpureus* Went a *Monascus ruber* van Tieghem¹⁸. Během let bylo izolováno a popsáno více než 20 druhů. Dnes je však mezinárodně uznáváno pouze devět druhů rodu *Monascus*⁸. Jedná se o *Monascus ruber* Van Tieghem, *Monascus pilosus* K. Sato ex D. Hawksworth and Pitt, *Monascus purpureus* Went¹⁸, *Monascus floridanus* Cannon and Barnard¹⁶, *Monascus pallens* Canon, Abdullah and Abbas¹⁵, *Monascus sanguineus* Canon, Abdullah and Abbas¹⁵, *Monascus eremophilus* Hocking and Pitt¹⁹, *Monascus lunisporas* Udagawa and Baba²⁰ a *Monascus argentinensis*¹⁴.

Taxonomické zařazení zástupců rodu *Monascus* se stále vyvíjí, u některých druhů bylo během dalších genetických i morfologických výzkumů zjištěno, že se jedná o nové kmeny již známých, popsáných druhů. Například *M. kaoliang*, *M. rubiginosus*, *M. anka*, *M. albidus*, *M. araneosus*, *M. major* jsou shodné s druhem *M. purpureus*, dále *M. pubigerus*, *M. rubropunctatus*, *M. serorubescens* jsou shodné s druhem *M. pilosus* a *M. paxii*, *M. vitreus*, *M. fuliginosus* jsou shodné s druhem *M. ruber*⁹.

Zástupce rodu *Monascus* lze na základě morfologických znaků a charakteristik rozdělit do dvou skupin, *Flori-*

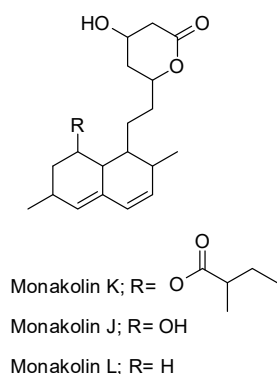
dani a *Ruberi*. Skupina *Floridani* odpovídá vlastnostmi druhu *Monascus floridanus*, do skupiny patří například druhy *M. pallens*, *M. argentinensis*, *M. lunisporas*. Skupina *Ruberi* odpovídá vlastnostmi druhu *Monascus ruber*, do skupiny dále patří například *M. pilosus* či *M. purpureus*. Zástupci skupiny *Ruberi* jsou charakterizováni jako producenti biologicky aktivních sekundárních metabolitů, např. pigmentů, monakolinů a citrininu¹⁷. Avšak i v rámci skupiny se jednotlivé kmeny liší svou schopností tvorby jednotlivých metabolitů²¹. Zástupci skupiny *Floridani* tyto skupiny sekundárních metabolitů neprodukují, některé kmeny však produkují specifické sekundární metabolity. Jedná se například o questin či bisdechlorogeodin¹⁷.

3. Metabolity

Rod *Monascus* se vyznačuje, jako mnoho dalších askomycet, produkcí široké škály sekundárních metabolitů. Nejvýznamnějšími a nejvíce využívanými sekundárními metabolity jsou pigmenty. Jedná se o azaflonové pigmenty se žlutým, oranžovým nebo červeným zabarvením. Kromě pigmentů produkují zástupci rodu také statiny, například monakolin K, L, J či dihydromonakolin L. Významným metabolitem je také mykotoxin citrinin. Dalšími produkovánými metabolity jsou například GABA (γ-aminomáselná kyselina), dimerumová kyselina, ethanol, organické kyseliny (jablčnā, fumarová, jantarová) či enzymy (amylasy, proteasy, lipasy, celulasy či esterasy)^{1,6,10,11,22–24}.

3.1. Monakoliny

Monakoliny patří do skupiny statinů. Statiny jsou látky působící jako inhibitory 3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzym A (HMG-CoA) reduktasy. HMG-CoA re-



Obr. 2. Strukturní vzorec monakolinu K, J a L

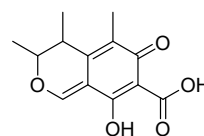
duktaasa katalyzuje hlavní krok biosyntézy cholesterolu, kdy je HMG-CoA redukován na kyselinu mevalonovou. Nejvýznamnějším monakolinem je monakolin K, označovaný také jako lovastatin či mevinolin. Jeho struktura je uvedena na obr. 2. Jedná se o komerčně produkované léčivo používané pod názvem Mevacor ke snižování množství cholesterolu v krevní plazmě (hypercholesterolemii). Hypercholesterolemie vede k ateroskleróze a kardiovaskulárním onemocněním¹. V Evropské unii je možné používat zdravotní tvrzení „Monakolin K z červené fermentované ržce přispívá k udržení normální hladiny cholesterolu v krvi“ pokud je příjem monakolinu K z doplňků stravy na bázi MFR 10 mg/den (cit.²⁵).

Biosyntéza monakolinů probíhá z acetátu polyketidovou dráhou, syntézy se účastní například enzymy lovastatin-nonaketidsynthasa a lovastatin-diketidsynthasa z rodiny polyketidsynthas (PKSs)^{26,27}. Je známo více než 27 sloučenin ze skupiny monakolinů. Monakolin K je nejúčinnější sloučeninou ze skupiny, hypolipidemické účinky můžeme pozorovat i u jeho strukturálních analogů, například monakolinu J, L a další derivátů^{28–30}.

U monakolinů však byly pozorovány i závažné nežádoucí účinky, hlavně na muskuloskeletální systém (například rhabdomyolýza) či na játra. Nežádoucí účinky monakolinů při užívání doplňků stravy na bázi MFR byly pozorovány při dávkách 10 mg monakolinu/den, v některých případech již při 3 mg/den. Nebyla však stanovena bezpečná denní dávka příjmu monakolinu jako doplňku stravy pro běžnou populaci³¹.

3.2. Citrinin

Citrinin, označován původně jako monascidin A, je mykotoxin s nefrotoxickými a hepatotoxickými účinky¹. Jedná se o žlutou krystalickou látku s bakteriocidními účinky na grampozitivní bakterie, jeho struktura je uvedena na obr. 3 (cit.^{6,32}). Biosyntéza citrininu probíhá nejprve prostřednictvím enzymů dráhy biosyntézy mastných kyselin, kdy synthasa mastných kyselin (FAS) katalyzuje kondenzaci acetylCoA se třemi malonylCoA. Poté pokračuje podobně jako syntéza monakolinů polyketidovou drahou³². Kromě houby *Monascus* citrinin produkuje i jiné mikroor-



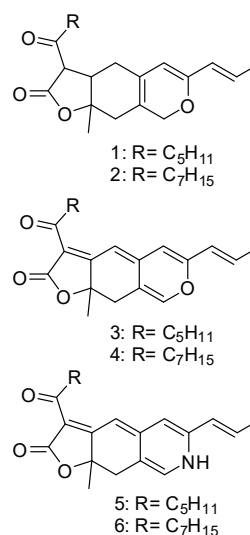
Obr. 3. Strukturní vzorec citrininu

ganismy, například zástupci rodu *Aspergillus* či *Penicillium*³³.

Množství citrininu je v Evropské unii regulováno nařízením evropské komise č. 2019/1901, kde jsou stanoveny maximální limity citrininu v doplňcích stravy na bázi MFR ($100 \mu\text{g kg}^{-1}$). V některých asijských zemích je limit nastaven podobně, například v Japonsku $200 \mu\text{g kg}^{-1}$ (cit.³⁴) a v Jižní Koreji $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ (cit.³⁵). Akutní letální dávka (LD_{50}) byla u myši stanovena na 100 mg kg^{-1} tělesné váhy³³.

3.3. Pigmenty

Pigmenty produkované houbou *Monascus* jsou látky dobře rozpustné ve vodě i ethanolu, jedná se o barviva s azafilonovou strukturou. Jedná se o směs různých pigmentů, které můžeme dělit na základě jejich absorpčních maxim do tří skupin: na žluté (330–450 nm), oranžové (460–480 nm) a červené (490–530 nm). Je známo 44 žlutých, 8 oranžových, 42 červených pigmentů, nejvýznamnější pigmenty jsou ankaflavin, monascin (žluté), rubrobunkatin, monaskorubrin (oranžové) a rubropunktamin, monaskorubramin (červené). Jednotlivé skupiny pigmentů se liší svou strukturou, jak je vidět na obr. 4 (cit.²). Kromě azafilonových pigmentů jsou známy také



Obr. 4. Strukturní vzorce hlavních pigmentů produkovaných zástupci rodu *Monascus* (1, Monascin; 2, Ankaflavin; 3, Rubropunktatin; 4, Monaskorubrin; 5, Rubropunktamin; 6, Monaskorubramin)

jejich deriváty označované jako monafily³⁶. Biosyntéza probíhá jako v případě monakolinů a citrininu polyketidovou drahou za působení specifických enzymů².

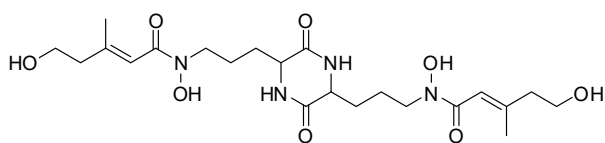
U pigmentů produkovaných houbou *Monascus* byly pozorovány protizánětlivé, protinádorové (antiproliferační) (cit.^{36–39}) a antimikrobiální účinky – proti bakteriím, kvasinkám i mikromycetám⁴⁰.

Tyto pigmenty nachází využití v potravinářství, kdy se používají k barvení masa a masných produktů, výrobě sójových produktů a rýžového vína nebo ke konzervaci sušeného masa a ryb. Slibné je jejich použití ve farmaceutickém i kosmetickém průmyslu či jako průmyslová barviva².

3.4. Dimerumová kyselina

Dimerumová kyselina (DMA), jejíž struktura je uvedena na obr. 5, je produktem rozpadu sideroforu coprogenu B. Siderofory jsou extracelulární nízkomolekulární organické látky produkované mikromycetami i bakteriemi s vysokým chelatačním účinkem na ionty železa (Fe^{3+}) (cit.^{41,42}).

Jedná se o přírodní antioxidant, jeho působení proti reaktivním formám kyslíku je vyšší než například v případě resveratrolu či kurkuminu. DMA má také protizánětlivé, hepatoprotektivní a chemopreventivní účinky⁴³.



Obr. 5. Struktura dimerumové kyseliny (DMA)

3.5. γ -Aminomáselná kyselina

γ -Aminomáselná kyselina (GABA) je neproteinogenní aminokyselina přítomná nejen v houbách, ale i dalších mikroorganismech či rostlinách. Vzniká dekarboxylací L-glutamové kyseliny a je známa jako hlavní inhibitor neurotransmiterů v centrální nervové soustavě (CNS)^{6,44}.

GABA má významnou roli s ohledem na lidské zdraví, vykazuje totiž širokou škálu biologických aktivit. Například má hypotenzní, antialergenní, protirakovinné, antimikrobiální, neuro-, hepato- a renoprotektivní účinky, působí také jako prevence neurologických onemocnění, insomnie, deprese či diabetu⁴⁴.

4. Závěr

Zástupci rodu *Monascus* produkují širokou škálu metabolitů, z nichž některé vykazují významnou biologickou aktivitu. Tradičně se houby rodu *Monascus* využívají v asijských zemích, k barvení a konzervaci potravin či jako součást tradiční čínské medicíny. V Evropě se zatím rod *Monascus* využívá převážně k výrobě doplňků stravy

k udržení normální hladiny cholesterolu. Průmyslové využití houby v potravinářství například k barvení a konzervaci masa a masných výrobků však zůstává otázkou z důvodu bezpečnosti produktů s využitím houby *Monascus*, respektive možné regulace produkce nežádoucích látek, hlavně mykotoxinu citrininu. Doufejme, že budoucí výzkumy vnesou do této problematiky nové poznatky a otevře se tak cesta širší produkci a využití rodu *Monascus*.

LITERATURA

1. Lin Y.-L., Wang T.-H., Lee M.-H., Su N.-W.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 77, 965 (2008).
2. Chen W. a 16 spoluautorů: Chem. Sci. 8, 4917 (2017).
3. van Tieghem M. P.: Bull. Soc. Bot. France 31, 226 (1884).
4. Geiser D. M. a 10 spoluautorů: Mycologia 98, 1053 (2006).
5. Houbraken J. a 10 spoluautorů: Stud. Mycol. 95, 5 (2020).
6. Patakova P., Branska B., Patrovsky M., v knize: *Fungal Metabolites* (Mérillon J.-M., Ramawat K. G., ed.), str. 821. Springer International Publishing, Cham 2017.
7. Wang T.-H., Lin T.-F.: Adv. Food Nutr. Res. 53, 123 (2007).
8. Shao Y., Lei M., Mao Z., Zhou Y., Chen F.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 98, 3911 (2014).
9. Park H. G., Jong S.-C.: Mycoscience 44, 25 (2003).
10. Chen M.-H., Johns M. R.: Enzyme Microb. Technol. 16, 584 (1994).
11. Bridge P. D., Hawksworth D. L.: Lett. Appl. Microbiol. 1, 25 (1985).
12. Carels M., Shepherd D.: J. Bacteriol. 122, 288 (1975).
13. Young E. M.: Am. J. Bot. 18, 499 (1931).
14. Stchigel A. M., Cano J., Abdullah S., Guarro J.: Stud. Mycol. 50, (2004).
15. Cannon P. F., Abdullah S. K., Abbas B. A.: Mycol. Res. 99, 659 (1995).
16. Barnard E. L., Cannon P. F.: Mycologia 79, 479 (1987).
17. Barbosa R. N., Leong S. L., Vinnere-Pettersson O., Chen A. J., Souza-Motta C. M., Frisvad J. C., Samson R. A., Oliveira N. T., Houbraken J.: Stud. Mycol. 86, 29 (2017).
18. Hawksworth D. L., Pitt J. I.: Aust. J. Bot. 31, 51 (1983).
19. Hocking A. D., Pitt J. I.: Mycologia 80, 82 (1988).
20. Udagawa S. I., Baba H.: Cryptogam. Mycol. 19, 269 (1998).
21. Higa Y., Kim Y.-S., Altaf-Ul-Amin M., Huang M., Ono N., Kanaya S.: BMC Genomics 21, 679 (2020).
22. Hajjaj H., Blanc P., Groussac E., Uribelarrea J.-L., Goma G., Loubiere P.: Enzyme Microb. Technol. 27, 619 (2000).
23. Chen M., Liu H., Zhen D., Fang S. L.: Afr. J. Biotechnol. 10, 5166 (2011).

24. Lumyong S., Tomita F.: *World J. Microbiol. Biotechnol.* **9**, 383 (1993).
25. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA): *EFSA J.* **9**, 2304 (2011).
26. Moore R. N., Bigam G., Chan J. K., Hogg A. M., Nakashima T. T., Vederas J. C.: *J. Am. Chem. Soc.* **107**, 3694 (1985).
27. Manzoni M., Rollini M.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **58**, 555 (2002).
28. Endo A., Hasumi K., Negishi S.: *J. Antibiot.* **38**, 420 (1985).
29. Wei R., Ma Q., Jiang W., Zhong G., Sang Z.: *Chem. Nat. Compd.* **55**, 1072 (2020).
30. Li G., Kusari S., Spiteller M.: *Nat. Prod. Rep.* **31**, 1175 (2014).
31. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS): *EFSA J.* **16**, 05368 (2018).
32. Li Y.-P., Tang X., Wu W., Xu Y., Huang Z.-B., He Q.-H.: *Food Addit. Contam. Part A* **32**, 577 (2014).
33. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM): *EFSA J.* **10**, 2605 (2012).
34. Fu G., Xu Y., Li Y., Tan W.: *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **16**, 137 (2007).
35. Kim H.-J., Ji G. E., Lee I.: *Food Sci. Biotechnol.* **16**, 142 (2007).
36. Hsu Y.-W., Hsu L.-C., Liang Y.-H., Kuo Y.-H., Pan T.-M.: *J. Agric. Food Chem.* **58**, 8211 (2010).
37. Hsu L.-C., Hsu Y.-W., Liang Y.-H., Kuo Y.-H., Pan T.-M.: *J. Agric. Food Chem.* **59**, 1124 (2011).
38. Hsu L.-C., Liang Y.-H., Hsu Y.-W., Kuo Y.-H., Pan T.-M.: *J. Agric. Food Chem.* **61**, 2796 (2013).
39. Hsu Y.-W., Hsu L.-C., Liang Y.-H., Kuo Y.-H., Pan T.-M.: *J. Agric. Food Chem.* **59**, 4512 (2011).
40. Martínková L., Jůzlová P., Veselý D.: *J. Appl. Bacteriol.* **79**, 609 (1995).
41. Sharma A., Johri B. N.: *Microbiol. Res.* **158**, 243 (2003).
42. Burt W. R.: *Infect. Immun.* **35**, 990 (1982).
43. Lee B.-H., Pan T.-M.: *J. Funct. Foods* **5**, 2 (2013).
44. Ngo D.-H., Vo T. S.: *Molecules* **24**, 2678 (2019).

M. Husáková (*Department of Biotechnology, University of Chemistry and Technology Prague*): **Genus *Monascus* and Its Secondary Metabolites**

Genus *Monascus* belongs to the kingdom *Fungi*. These are ascomycetes known and used in Asia for centuries for food dyeing and conservation, or as part of traditional Chinese medicine. In the western world, *Monascus* fungus is used to produce food supplements. The representatives of genus *Monascus* produce a wide range of secondary metabolites, some of them having significant biological effects. The most important metabolites are azaphilone pigments, monacolins and mycotoxin citrinin. However, wider production of pigments and use of genus *Monascus* in food industry proves to be problematic because of the production of undesirable compounds such as citrinin.

Keywords: genus *Monascus*, secondary metabolites, monacolins, citrinin, pigments, biological activity

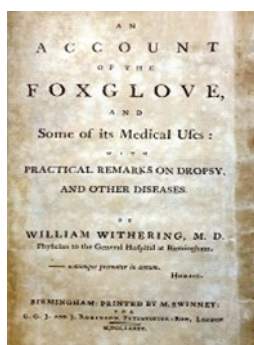
VENENUM BUFONIS – PANACEA?*

MICHAL JURÁŠEK^a, LUBOMÍR OPLETAL^b, EVA
KMONÍČKOVÁ^c a PAVEL DRAŠAR^a

^a Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Katedra farmaceutické botaniky, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, ^c Ústav farmakologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5
drasarp@vscht.cz

Došlo 12.2.21, přijato 6.4.21.

Klíčová slova: ropuší jed, kardiotonické steroidy, bufadienolidy, glykosidy, konjugáty, Chan Su, tradiční čínská medicína



Anglický lékař William Withering se v roce 1775 nechal inspirovat tím, jak babka kořenářka (mytická „matka Huttonová“) léčila vodnatelnost nálevy z náprstníků, k rozsáhlému výzkumu. Již deset let na to publikoval vědeckou studii o účincích této rostliny¹. Mnohem později byly z náprstníků izolovány a charakterizovány kardioglykosidy. Čínská literatura, počínaje

knihou Yao Xing Lun (藥性論) až po současný čínský lékopis² (Chinese Pharmacopoeia), však již o tisíc let dříve popisuje použití preparátu Ch'an Su (蟾酥, vyslov „čan su“, Chan Su, japonsky senso, korejsky Sumsu), preparátu získaného z kožních výměšků ropuch *Bufo gargarizans* Cantor nebo *Bufo melanostictus* Schneider a dalších, případně jeho vodného extraktu zvaného HuaChanSu (cinobufacini) k léčení celé řady chorob a neduhů. Někdy je používána samotná sušená kůže pod názvem Chanpi. Dlužno podotknout, že bufadienolidy (patřící mezi kardiotonické steroidy) jsou obsaženy nejen ve výměšku ropuch orientálních, ale že jsou ropuchy s obsahem uvedených látek rozšířeny po celém světě³.

Chan Su a jeho deriváty byly a jsou používány velmi široce, od takových chorob jako úžeh a mdloby, bolest břicha, bolest v krku a další, zvracení a průjem, srdeční

nedostatečnost, otoky, furunkly, plynatost, rachitis, leukemie až po omezení růstu některých zhoubných nádorů a jejich léčení, a dokonce proti toxickým látkám⁴. V japonském středověku si samurajové pro jeho anestetické účinky natírali rány masť z Chan Su. Za významnou se dnes považuje i aktivita imunomodulační⁵.

Podstatnou složkou Chan Su jsou kardiotonické steroidy. V Evropě lékařská věda, až na výjimky, zůstala u použití kardioglykosidů pro jejich pozitivně inotropní (zvyšující stažlivost srdečního svalu) a negativně chronotropní (snižující frekvenci srdečních stahů) účinek u léčení srdeční insuficience, arytmií a některých dalších srdečních chorob. Nicméně Evropa a také USA do velké míry opustily použití kardioglykosidů, protože se statisticky zjistilo, že stimulace srdce sice zlepšila jeho činnost, ale nesnižuje mortalitu⁶. Navíc dávkování digoxinu vykazuje značnou interindividuální variabilitu⁷. V současnosti se zdá být účinnější druhý přístup: otevření periferního řečiště, a tím odlehčení srdci, tady je přežívání pacientů statisticky významnější.

Východní medicína odjakživa, jak již bylo řečeno, používala ropuší kardiotonické steroidy buď jako substanci Chan Su, nebo ve formě Chanpi, HuaChanSu, či ve směsi s jinými léčivými drogami, přehled přináší cit.^{8,9}. Často jde o poměrně neobvyklé směsi, které vycházejí ze specifík tradičních asijských léčitelských systémů. Nicméně léčení rakoviny prsu použitím Chan Su bylo popsáno již v roce 1617 (cit.¹⁰).

Webová encyklopedie tradiční čínské medicíny TCM Wiki řadí Chan Su mezi „oživovací byliny“ (Resuscitative Herbs; jakkoli ropucha patří do jiné říše) a popisuje ho jako štiplavý, teplý, toxický s tím, že vyvolává resuscitaci a osvěžuje mysl, mírní toxicitu a bolest, léčí abscesy, rozsáhlý karbunkl, velké otoky a záněty, bolesti v krku a bolesti zubů. Jako jednotlivou dávku v pilulkách (*pilulae*) či prášku (*pulvis*) doporučuje 15 až 30 mg, přičemž nabádá dávku přísně dodržovat. Kontraindikuje drogu těhotným ženám¹¹.

Hlavními projevy otravy Chan Su jsou křeče, zástava dýchání a zánět zažívacího traktu. Dávka LD₅₀ pro člověka při orálním podání Chan Su bývá uváděna 0,36 mg kg⁻¹. Obecně bylo rozmezí terapeutických dávek 3–5 mg den⁻¹ a méně než 135 mg den⁻¹ (cit.⁸). Je logické, že podle modelu ACD/Labs Percepta je perorální letální dávka kardiotonik o dva řády vyšší než dávka intravenózní a o jeden řád vyšší než intraperitoneální¹². Obvyklá udržovací dávka kardioglykosidů, konkrétně digoxinu, je 0,125–0,250 mg den⁻¹ a terapeutická hladina v plazmě v ustáleném stavu se pohybuje téměř v „homeopatickém“ řádu 10⁻⁹ g ml⁻¹.

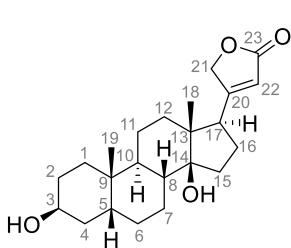
* panacea, označení prostředku, který má být schopen léčit všechny choroby; *venenum bufonis*, ropuší jed

Lékaři za starých časů u pacientů postupně zvyšovali dávku kardiotionik tak, až pacient začal zvracet, a pak po uklidnění aplikovali dávku sníženou na polovinu.

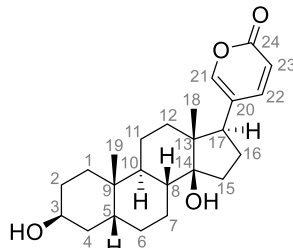
Terapeutické dávkování Chan Su pro posílení srdeční činnosti bylo 4–8 mg 2–3krát denně, i tak se ale projevila nevolnost. Dávka u léčení maligních tumorů byla 2 ml 2% Chan Su v sezamovém oleji, podaná nitrosvalem injekcí. Toxické příznaky, pokud se mluví o Chan Su, které se mohou projevit již během 30 minut, jsou nevolnost, zvracení, necitlivost jazyka, bolesti břicha a průjem, pění v ústech, cyanóza prstů, rtů a samozřejmě poruchy srdeční činnosti. Pitevni nález zaznamenal ekchymózu, byl nalezen mozkový a plicní otok a také intersticiální edém myokardu. Mikroskopické vyšetření popsalo intersticiální kongesci myokardu, kongesci plic, edém a fokální krvácení, těžký mozkový edém, edém jater, kongesci ledviny a balonovou degeneraci. Kromě toho byla popsána oční toxicita při přímém zasažení očí⁸. Nutno vzít v úvahu, že otrava touto drogou má z hlediska pozorovatele poněkud jiný průběh než čistá otrava kardiotionickými steroidy.

Otrava léčivými drogami s obsahem bufadienolidů je poměrně vzácná a má lehčí průběh než u digitalisových glykosidů, protože bufadienolidy jsou resorbovány z trávicího traktu v menší míře (což je způsobeno tím, že resubufogenin a cinobufagin, hlavní složky Chan Su, nejsou glykosylovány, a mají tudíž menší biodostupnost), mají relativně nízký kardiotionický účinek, zato však je vystupňován účinek diuretický¹³.

V učebnicích najdeme rozdělení kardiotionických steroidů na kardenolidy (steroidní deriváty mající v poloze C-17 steroidu nenasycený pětičlenný lakton) a bufadienolidy (kde je tento lakton opět nenasycený, ale šestičlenný). Dále se dočteme, že kardenolidy nacházíme v řiši rostlinné a bufadienolidy v řiši živočišné, toto rozdělení je však dnes nutno považovat za „učebnicové“, protože neplatí na 100 % (cit.^{14,15}).



kardenolid, 3 β ,14-di-hydroxy-5 β -kard-20(22)-enolid (digitoxigenin)



bufadienolid, 3 β ,14-di-hydroxy-5 β -bufa-20,22-dienolid (bufalin)

Ze všech biologických aktivit byl nejlépe prozkoumán pozitivně inotropní mechanismus účinku kardioglykosidů, jenž je založen na inhibici Na⁺/K⁺ dependentní ATPasy, zde odkazujeme na literaturu^{16,17}. Pro dostatečnou biodostupnost u libovolné studované aktivity musí mít molekula

buď řadu polárních substituentů kolem steroidního skeletu, anebo šikovnou substituci aglykonu zejména v poloze C-3 β . Mezi šikovné substituce patří zejména glykosidace, esterifikace několikasytnou organickou kyselinou, ale i anorganickou, potažmo kyselinou sírovou nebo fosforečnou. Cytotoxické účinky jednotlivých kardiotionických steroidů^{15,18} jsou v současnosti předmětem intenzivního výzkumu, včetně SAR¹⁹, pro jejich využití v protinádorové léčbě. Další biologické aktivity jsou méně studovány a stejně tak i jejich možné uplatnění v „západní“ medicíně.

Chan Su připravené z vytlačených sušených výměšků ušních a kožních žláz ropuchy se, zejména v Číně, Koreji a Japonsku, prodává „od nepaměti“ ve formě koláčků (cake, disk-like) nebo destiček (thin-plate, flake). V současné době dodávají čínské farmaceutické firmy tento výrobek i v podobě prášku. Chan Su má hnědavou až tmavě (červeno)hnědou barvu, uvnitř vzorku bývá jakási opalescence, která se obvykle zachová i po rozpuštění ve vodě. Chan Su vodou bobtná. Bohužel bývá pančován zejména škrobem nebo dokonce mletými ropušími kůžemi⁸. Na internetovém tržišti Alibaba se dá koupit, podle kvality, za vcelku rozumnou cenu kolem 100 \$/kg EXW jako surový prášek. Lze jej ale koupit i v čínských lékárnách jako tablety, injekce (nemalobuněčný karcinom plic), roztok (na léčení hnisavých ran), kapky (na obnovení imunity, jako antiradiační prostředek) či náplast (proti revmatickým a jiným bolestem) a podobně. Řada prací se zabývá též kvalitou výroby tohoto preparátu (např.²⁰). Přehled analytické chemie pro tradiční čínské léčivé přípravky uvádí i Chan Su²¹, hezký přehled se zabývá analytikou cytotoxických bufadienolidů²². V poslední době lze zaznamenat řadu udělených patentů na různá zlepšení výroby Chan Su (např.²³).

Biologická účinnost Chan Su je vázána na tři hlavní přítomné skupiny látek: bufadienolidy, indolové alkaloidy a peptidy (i polypeptidy) s tím, že dále jsou obvykle přítomny též další komponenty jako adrenalin, steroly (tj. bez laktonu na C-17), cyklické amidy, polysacharidy, aminokyseliny, organické kyseliny a řada dalších látek. V Chan Su byl popsán i steroid s pětičlenným nenasyceným laktonem, kardenobufotoxin^{25,26}.

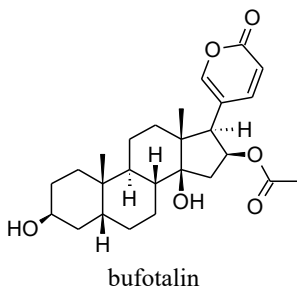
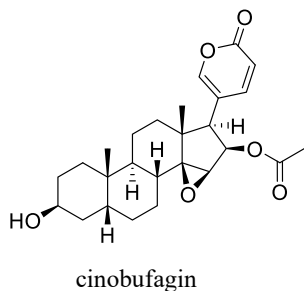
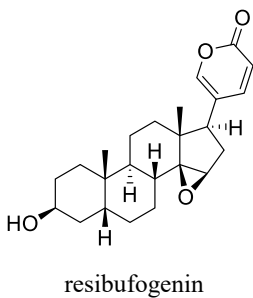
Z Chan Su bylo zatím izolováno více než 140 bufadienolidů a je jim připisována zodpovědnost za významné protinádorové, kardiotionické a anestetizující účinky⁸. Z nich je více než polovina „geninů“ (samotných aglykonů), 16 derivátů dikarboxylových kyselin, kde na druhém konci kyseliny může být připojena aminokyselina (arginin), a 8 esterů kyseliny sírové.

Steroidní skelet bufadienolidů může obsahovat celou řadu substituentů, včetně hydroxylových, epoxidových, acetylových, keto, mastných kyselin se středním a dlouhým řetězcem, thiosulfonovou kyselinu a jiné. Méně bývají zastoupeny formiáty nebo methylethery. Hydroxylová skupina může být v polohách 1 β , 3 β , 5 β , 11 β , 12 α , 12 β , 14 β , 16 β a 19. Kromě toho může být v polohách 3, 11, 12 a 19 karbonyl. Výjimečně může být methylová skupina na uhlíku C-10 nahrazena hydroxyskupinou, peroxoskupinou (19-norbufadienolidy) nebo oxidována na karboxylovou skupinu. Byly také izolovány norbufadienolidy, bufogar-

Obr. 1. Chan Su koláčkový a destičkový²⁴

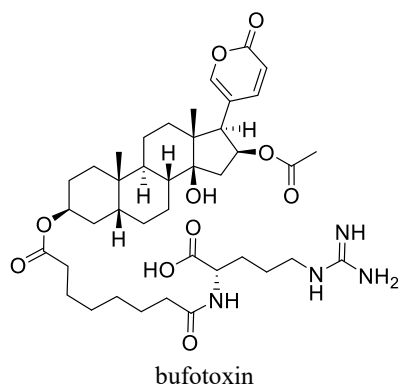
gariziny s obměněnými kruhy A a B: A-nor, B-homo a A-homo, B-nor²⁷. Za zmínku stojí i 20,21-epoxybufadienolidy²⁸.

Aglykony můžeme rozdělit na klasické bufadienolidy s 14 β -hydroxyskupinou a látky odvozené od resibufogeninu obsahujícího v molekule β -orientovaný 14,15-epoxidový kruh. Podle čínského lékopisu by mělo být v Chan Su ne méně než 6 % resibufogeninu a cinobufaginu, což jsou steroidy vyskytující se v nejvyšší koncentraci.

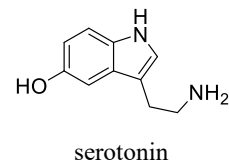
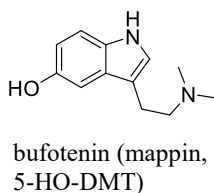


Další nekonjugovanou složkou je též bufotalin, který byl recentně navržen m.j. jako prostředek k léčení lidského zhoubného melanomu²⁹.

Někdy je jako samostatná skupina bufadienolidů oddělena skupina tzv. toxinů, ve kterých je aglykon substituívaný na hydroxylu v poloze 3 β jako hemiester dvousytné organické kyseliny (nejčastěji kyselina suberová), která má opačný karboxyl substituívaný aminokyselinou (nejčastěji arginin).



Indolové alkaloidy bufoteninového typu jsou v Chan Su obsaženy v množství téměř 8 % a zahrnují dosud identifikovaných 15 ve vodě rozpustných sloučenin tohoto typu, včetně samotného serotoninu. Nesou neurotoxickou a halucinogenní aktivitu a ta vedla drogové experimentátory až tak daleko, že olizovali ropuchy³⁰. Samotný bufotenin, 5-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptamin, je coby psychomimetická látka zpochybňován samotným Shulginem³¹, který jej připravil synteticky z 5-hydroxyindolu.



Třetí podstatnou složkou Chan Su jsou peptidy a proteiny. Zde není mnoho dat o biologické aktivitě, ale jsou zmínky, že jde o látky cytostatické, antimikrobiální, antioxidační, ovlivňující imunitní a metabolické procesy³², omezující proliferaci nádorových buněk a angiogenezi, dále proteiny ovlivňující apoptózu, mající co do činění s buněčnými strukturami, katalytickými a transportními procesy či se zvýšením transdermální penetrace³³. Byla publikována analýza 153 peptidů³⁴ z Chan Su. Připomeňme, že v kožním sekretu čínské žáby *Odorrana tormota* byly též nalezeny a charakterizovány peptidy podporující hojení ran³⁵. Navíc byly nalezeny antimikrobiální peptidy i v kožních sekretech dalších žab³⁶.

V literatuře se objevuje popis různorodého působení Chan Su. Tak například v době koronavirové pandemie bylo zjištěno³⁷, že Chan Su zlepšuje dýchací funkce pacientů těžce zasažených infekcí COVID-19. Patentováno bylo použití Chan Su k léčení AIDS³⁸ i jako adjuvans pro zvýšení imunity³⁹. Chan Su má vliv na úzkost a deprese^{40,41}, a to i ve farmakopunkturní aplikaci do definovaných akupunkturních bodů⁴², je popsána i anestezie pomocí Chan Su ve farmakopunkturní aplikaci⁴³. Chan Su byl použit k výrobě přípravku na léčení drogové závislosti⁴⁴. Jakkoli to vypadá zvláštně, lze najít práce, kde je popsán pozitivní vliv Chan Su na zánět způsobený radiací⁴⁵, což může souviset s tím, že bufalin ovlivňuje opravu poruch DNA způsobených rentgenovým zářením⁴⁶. Méně výhodnou vlastností z hlediska farmakoterapie je fakt, že bufalin inhibuje CYP3A4 *in vitro* i *in vivo*⁴⁷.

Za zmínku jistě stojí patenty, které uvádějí Chan Su jako lék na erektilní impotenci a předčasnou ejakulaci^{48,49}. K zamyšlení vede ale zpráva, že použití topického přípravku obsahujícího bufadienolidy vedlo v letech 1993–1995 k onemocnění a smrti pěti mužů⁵⁰, podobné afrodiziakum s názvem „Kámen lásky“⁵¹ nebo „Jamajský kámen“⁵² zahubilo další muže⁵³.

Jako příklad alchymických směsí, které pro „západní medicínu“ budou vypadat přinejmenším zvláštně, uveďme Liu-Shen-Wan (směs pižma, bezoáru, Chan Su, perel a realgaru), přípravek s protizánětlivou, protinádorovou, antivirovou, analgetickou, antibakteriální a imunomodulační aktivitou se používá též při infekčních onemocněních (chřipka)⁵⁴ a m.j. i při polybakteriální sepsi vyvolané perforací slepého střeva⁵⁵. She-Xiang-Bao-Xin (směs pižma, žlučových kamenů, Chan Su a čtyř rostlinných drog) se používá při ischemické chorobě srdeční a hypertenzi⁵⁶. Směs z Chan Su, broskvového semene, gardénie, mandlí, lepkavé rýže, bílého pepře a vaječného bílku byla patentována jako léčivý přípravek na epilepsii⁵⁷. Jiná směs Chan Su a arsenu byla patentována jako léčivý přípravek na prasečí virovou horečku⁵⁸. Čínský lékopis uvádí několik desítek takových léčivých přípravků, soudobá patentová literatura o řád více. Podle časopisu Forbes se těchto přípravků prodají miliony dávek ročně⁵⁹.

Významný zástupce biologicky aktivních přírodních látek Chan Su je v poslední době středem velkého zájmu vědeckého zkoumání založeného na důkazech. Zatímco do roku 1994 byly publikovány ročně nanejvýš jednotky prací na toto téma, v mezidobí 1995–2010 desítky, tak

v posledních letech desítek několik. Svědčí to m.j. o velkém zájmu odborníků o obsahové látky Chan Su, potažmo o bufadienolidy a zejména o jejich vliv na různé typy nádorů. Léčivá droga, používaná již několik tisíc let, je tak stále oprávněně ve středu zájmu. V ropuším jedu (*venenum bufonis*) stvořila příroda pravou knihovnu biologicky účinných látek, kterou se v Orientu naučili lidé používat již před tisícovkami let a kterou vyrábějí, používají a zkoumají dodnes.

LITERATURA

1. Withering W.: *An Account of the Foxglove and Some of Its Medical Uses: With Practical Remarks on Dropsy and Other Diseases*. Swiney, Birmingham 1775.
2. China Pharmacopoeia Committee, *2015 Edition of Chinese Pharmacopoeia*. Chemical Industry Press, Beijing 2015.
3. Pantanowitz L., Naude T. W., Leisewitz A.: *S. Afr. Med. J.* 88, 1408 (1998).
4. Wei Z.: *Linchuang Junyi Zazhi* 44, 105 (2016).
5. Wang X. L. a 9 spoluautorů: *J. Asian Nat. Prod. Res.* 13, 383 (2011).
6. Rathore S. S., Curtis J. P., Wang Y., Bristow M. R., Krumholz H. M.: *JAMA, J. Am. Med. Assoc.* 289, 871 (2003).
7. Muzzarelli S., Stricker H., Pfister O., Foglia P., Moschovitis G., Mombelli G., Brunner-La Rocca H.: *Q. J. Med.* 104, 309 (2011).
8. Wei W.-L. a 9 spoluautorů: *J. Ethnopharm.* 237, 215 (2019).
9. Patočka J.: *Voj. Zdrav. Listy* 77, 160 (2008).
10. Chen S.: *Wai Ke Zheng Zong: A Compendium on External Diseases in Traditional Chinese Medicine*, Ren Min Wei Sheng Chu Ban She, Beijing 1956.
11. <https://tcmwiki.com/wiki/chan-su>, staženo 13. 2. 2021.
12. ACD/Labs: *Percepta*, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, verze 2018.2.5.
13. Melichar B. a 4 spoluautoři: *Chemická léčiva*, 3. vyd., str. 380. Avicenum, Praha 1987.
14. Gwaltney-Brant S. M., v knize: *Small Animal Toxicology*, 2. vyd., str. 643. Elsevier Saunders, St. Louis 2006.
15. Aronson J. K., v knize: *Manson's Tropical Infectious Diseases*, 23. vyd., str. 1128. Elsevier Saunders, St. Louis 2014.
16. Bejček J., Spiwok V., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
17. Kršiak M.: *Remedia* 24, 486 (2014).
18. Zhan X., Wu H., Wu H., Wang R., Luo C., Gao B., Chen Z., Li Q.: *J. Ethnopharmacol.* 246, 112178 (2020).
19. Yue-Zhong, Chao-Zhao, Wu W. Y., Fan T. Y., Li N. G., Min-Chen, Duan J. A., Shi Z. H.: *Eur. J. Med. Chem.* 189, 112038 (2020).
20. Fang Y.-G., Wang P.-F., Zhu H., Chen L.-M., Wang Z.-M., Gao H.-M., Fu X.-T., Nie J.: *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 45, 1726 (2020).

21. Drašar P., Moravcová J.: J. Chromatogr. B 812, 3 (2004).
22. Ye M., Guo H., Guo H., Han J., Guo D.: J. Chromatogr. B 828, 86 (2006).
23. Yan Q., Bu S., Hua Y.: CN210814181-U (2020); Derwent Primary Accession Number: 2020-603454.
24. <http://www.teacher.aedocenter.com/mywebB/nb-10/ko-32.htm>, staženo 11. 2. 2021.
25. Fujii Y., Shimada K., Niizaki Y., Nambara T.: Tetrahedron Lett. 34, 3017 (1975).
26. Ro J. S., Lee K. S., Park W. Y., Oh K. J., Ahn B. T., Eo K. C., Jeong D. R., Nambara T.: Saengyak Hakhoechi 21, 130 (1990).
27. Tian H. Y. a 9 spoluaautorů: Chem. Eur. J. 16, 10989 (2010).
28. Kamano Y., Nogawa T., Ayano Y., Hayashi M., Inoue M., Drašar P., Pettit G. R.: J. Nat. Prod. 65, 1001 (2002).
29. Pan Z. a 10 spoluaautorů: Oncol. Rep. 41, 2409 (2019).
30. <https://www.addictioncenter.com/news/2019/10/trendy-psychedelic-toad-venom/>, staženo 12. 2. 2021.
31. Shulgin A., Shulgin A., v knize: *Tikhal*, str. 473. Transform Press, Berkeley 1997.
32. Huo Y. G., Xv R. X., Ma H. Y., Zhou J., Xi X. P., Wu Q. A., Duan J. A., Zhou M. N., Chen T. B.: J. Pharm. Biomed. Anal. 157, 156 (2018).
33. Ma H., Zhou J.: CN112007167-A (2020); Derwent Primary Accession Number: 2020-C2163S.
34. Mariano D. O. C., Messias M. D. G., Spencer P. J., Pimenta D. C.: J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis. 25, e20190029 (2019).
35. He X. a 10 spoluaautorů: Front. Immunol. 10, 2421 (2019).
36. Gomes A., Teixeira C., Ferraz R., Prudêncio C., Gomes P.: Molecules 20, 1743 (2017).
37. Hu F., Chen J., Chen H., Zhu J., Wang C., Ni H., Cheng J., Cao P., Hu X.: medRxiv preprint, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.20.20107607>.
38. Du W.: CN102727529-A (2013); Derwent Primary Accession Number: 2013-B04004.
39. Shimizu Y., Ito C., Inoue E.: JP2005082504-A, JP4606715-B2 (2005); Derwent Primary Accession Number: 2005-257374.
40. Shirzad S., Neamati A., Vafae F., Ghazavi H.: Res. Pharm. Sci. 15, 571 (2020).
41. Ma H., Tao W., Li N., Duan J., Zhou J.: CN112138028-A (2021); Derwent Primary Accession Number: 2021-03178G.
42. Choi M., Kim K., Lee J.-E., Suh J.-W., Kim S.-C., Kwon K. R., Cho S.-H.: J. Pharmacopunct. 17, 27 (2014).
43. Kwon K., Seo H.-S.: J. Korean Med. Ophthalmol. Otorhinolaryngol. Dermatol. 30, 165 (2017).
44. Yuan B., Sun B.: CN101011476-A; CN101011476-B (2008); Derwent Primary Accession Number: 2008-B61751.
45. Li Y., Lin J. M., Xiao J., Li Z. X., Chen J. S., Wei L., Wang X. W.: Exp. Anim. 69, 354 (2020).
46. Pastor N., Cortes F.: DNA Repair 2, 1353 (2003).
47. Li H. Y., Xu W., Zhang X., Zhang W. D., Hu L. W.: Acta Pharmacol. Sin. 30, 646 (2009).
48. Ji J. W., Kang J. K., Kim Y. H., Jung S. H., Cho H. J., Lee K. H.: US 6726935 (2004).
49. Shin G. H.: KR2003030978-A (2003); Derwent Primary Accession Number: 2003-613704.
50. Centers for Disease Control and Prevention: Morb. Mortal. Wkly. Rep. 44, 853 (1995).
51. Sandroni P.: Clin. Auton. Res. 11, 303 (2001).
52. Diaz-Anton B., Alonso-Deniz G., Perez-Vela J. L., de Nicolas J. M. M., Rubio-Alonso B., Jurado-Roman A., Miguel-Gutierrez A., Martin-Asenjo R.: Rev. Port. Cardiol. 36, 143 (2017).
53. Barry T. L., Petzinger G., Zito S. W.: J. Forensic Sci. 41, 1068 (1996).
54. Ma Q., Huang W., Zhao J., Yang Z.: J. Ethnopharm. 252, 112584 (2020).
55. Ma H., Kou J., Zhu D., Yan Y., Yu B.: Int. Immunopharm. 6, 1355 (2006).
56. Lu L., Sun X., Chen C., Qin Y., Guo X.: Frontiers Pharmacol. 9, 1161 (2018).
57. Lu J.: CN111658734-A (2020); Derwent Primary Accession Number: 2020-92255T.
58. Zhu T., He G., Wu Q.: CN101194915-A (2008); Derwent Primary Accession Number: 2008-M15869.
59. Dolan K. A.: Forbes May 11 (2007); <https://www.forbes.com/global/2007/0521/052.html?sh=7d173b8659e4>, staženo 12. 2. 2021.

M. Jurásek^a, L. Opletal^b, E. Kmoníčková^c, and P. Drašar^a

(^a Department of Chemistry of Natural Products, University of Chemistry and Technology, Prague, ^b Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University, Hradec Králové, ^c Department of Pharmacology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague): *Venenum Bufonis – Panacea?*

An important representative of biologically active natural substances, Chan Su, has recently been the focus of great interest in evidence-based scientific research. While until 1994 no more than single papers on this topic were published annually, in the period 1995–2010 there appeared tens, and in recent years several tens. This indicates a great interest of experts in the components of Chan Su, and thus in bufadienolides and especially in their influence on various types of tumours. The corresponding medicinal drug, being used for several thousand years, is still rightly in the centre of attention. In the toad venom (*Venenum bufonis*), nature has created a real library of biologically active substances, which people in the Orient learned to use thousands of years ago and which they produce, use and examine to this day.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: toad venom, cardiotonic steroids, bufadienolides, glycosides, conjugates, Chan Su, traditional Chinese medicine

O JALOVČINKÁCH A JALOVCOVÉ

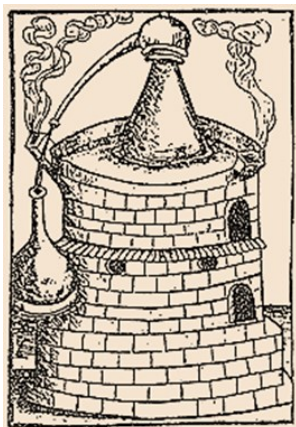
MICHAL JURÁŠEK^a, LUBOMÍR OPLETAL^b
a PAVEL DRAŠAR^a

^a Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Katedra farmaceutické botaniky, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
drasarp@vscht.cz

Došlo 16.4.21, přijato 3.5.21.

Klíčová slova: jalovec obecný, jalovčinky, gin, borovička, historie, biologická účinnost, α -pinen

přístroje umožňující chlazení kondenzátu, které se datují přibližně do 12. století n.l. (cit.^{2,3}). Alkoholové destilace jsou popsány ve dvoudílné monografii od Hieronyma Brunswiga ze Strassburgu^{4,5} najmě pro přípravu léčebných nápojů, ke kterým patřil historicky i jalovcový destilát dnes zvaný ponejvíce gin. Je to aromatizovaný destilovaný nápoj v současnosti vyráběný z lihu obvykle získávaného ze zkvašené obilné zápary s jalovcovými bobulemi⁶ (což je nepravý plod samičí šištice, galbulus) jalovce obecného *Juniperus communis* L., tzv. *Juniperus pseudo-fructus*, *Juniperus optimus qualis bacae*, *Juniperi baccae*, *Juniperi fructus*, jako hlavní aromatickou přísadou. Za původ-



I když byl proces destilace známý řeckým alchymistům v Alexandrii a zařízení k provádění tohoto procesu je popsáno v prastarých chemických pojednáních, jako jsou rukopisy Zosima z Panopolisu v Horním Egyptě z přelomu 3. a 4. století¹, byl *spiritus vini* objeven až později. Klíčem k objevu alkoholu, známého jako *aqua vitae* nebo *aqua ardens*, byly

ce ginu je často mylně označován profesor medicíny na univerzitě v Leidenu dr. Franciscus Dele Boë, známý jako dr. Sylvius⁷, který destiloval jalovcové bobule s lihovinami v polovině 17. století, aby připravil levné diuretikum a smíchal tedy dvě močopudné suroviny – jalovcovou silici⁸ a obilný destilát. Sylviovo prvenství může být zpochybněno faktem, že takový nápoj je popsán ve hře Philipa Massingera *The Duke of Milan* z roku 1623. Počátky jalovcového destilátu lze vysledovat též u benediktinských mnichů z 11. století v Salernu v jižní Itálii, v klášteře obklopeném zvlněnými kopci a jalovci. Tito mniši používali alchymický alembík, který užíval i otec arabské alchymie Abu Musa Jabir ibn Hayyan zvaný Geber v Bagdádu na dvoře chalífa Hárúna al-Rašída na konci 700. let n.l. k přípravě léků, z nichž jeden byl destilován z vína smíseného s bobulemi jalovce. Jalovec byl jako léčivá bylina znám po staletí. Římané pálili větve jalovce kvůli očištění a středověcí moroví lékaři naplnili zobáky svých strašidelných masek jalovcem, aby je ochránili před černou smrtí. V celé Evropě podávali lékárníci jalovcová vína proti kašli, nachlazení, bolestem a křečím, zřejmě podle učení řeckého lékaře Pedania Dioscoridea ze sedmdesátých let Léta Páně⁹. Nejstarší holandský recept na gin (*Aqua Juniperi*, genererbessenwater) se nachází v knize z roku 1551 od Adama Lonicera¹⁰. V německých zemích se vyráběl podobně Steinhäger či Wacholderbranntwein¹¹; vyhláškou z roku 1688 udělil „velký kurfiřt“ Frederick William z Braniborska jako hrabě z Ravensbergu obyvatelům Steinhagenu výhradní výsadu destilovat tento alkohol s příchutí jalovčinek¹². Na Slovensku je takový nápoj, byť mnohem silnější chuti, znám jako borovička již od 16. století, kdy takovou pálenku jezuité po příchodu na Turiec vyráběli jako lék^{13,14}. Nemá to nic společného s borovicí (*Pinus*), ale se slovenským názvem pro jalovčinky – borievky. Ve Slovinsku je to pak brinjevec a berryška, v Srbsku klekovača, kleka a podobně.

Borovičku lze vyrábět přímo i ze zkvašené zápary z rozdrčených bobulí jalovce, protože pokud dobře vyzrají, obsahují až 30 % cukrů, najmě glukosy a fruktosy. Klasický postup citovaný Codexem Agrol¹⁵ (proti původnímu receptu jsme některé názvy „zmodernizovali“) bere 100 kg drčených jalovčinek, 300 l vody a nechává kvasit při 32 °C. Ke směsi se přidává tzv. rozkvas z lihovarského droždí, síranu amonného a superfosfátu. Zkvašená zápara se destiluje a z destilátu se sbírá silice (*Oleum Juniperi baccae*). Výpalky se smísí s bramborovým lihem a směs se opět destiluje. Oba destiláty se smísí. Tak ze 100 kg jalovčinek získáme 12 l borovičky. Na rozdíl od borovičky Šteffl¹⁶ ve svém klasickém receptáři bere na „holandský genévre“ 1,8 kg čerstvých jalovčinek, 15 l vody a 10 l 96% lihu, což destiluje na 60 % (10 l). Tento destilát smíchá s 18,5 l 96% lihu, sirupem z 1,6 kg cukru, 800 ml vody a 13 g kyseliny citronové, 4 g anýzové silice (*Etheroleum*

Anisi vulgaris), 1 g silice z hořkých pomerančů (*Oleum Aurantii pericarpium*) 8 g celerové silice (*Apium aetheroleum e fructibus*) a přidá se 21 l destilované vody. V jiném receptu pak přidává mimo jalovcové silice i samotnou borovici, brandy, skořicovou silici (*Oleum Cinnamomi*), pomerančovou silici (*Oleum Aurantii pericarpium*), angelikovou silici (*Oleum Angelicae*), puškvorcovou silici (*Calami aethereum*).

V archivech se dochoval recept na slavný laboratorní Juniperás¹⁷, na který bereme 400 g rozmačkaných jalovčinek a 600 ml 70% lihu a macerujeme je 8 dní, tekutinu slijeme a opakujeme maceraci ještě jednou. Jalovčinky vylišujeme a extrakty spojíme na esenci. Ke 2 l 50% lihu přidáme 7 ml esence, 5 kapek citronové silice (*Oleum Citri*). Směs destilujeme přes Vigreuxův deflegmátor nejméně 10 cm dlouhý a bereme destilát až do t.v. 90 °C. Destilát zředíme destilovanou vodou na 50 %, přidáme 0,25 g vanilkového cukru, 0,5 ml glycerinu a 1 kapku kyseliny sírové p.a. V některých postupech je přidáván před destilací i extrakt z jehličí kleče (*Pinus mugo*) a borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.).

Název gin pochází z francouzského názvu pro jalovcové bobule (*genièvre*), který Holanďané pozměnili na *genever* (*jenever*) a poté zkrátili na gin. Nápoj byl přenesen do Anglie vojáky vracejícími se z Nizozemska jako „holandská kuráž“ a byl nesmírně populární, najmě za vlády britského krále Williama III. V 18. století vytvořila nadměrná konzumace nižšími vrstvami sociální problém, zvaný¹⁸ m.j. „ginová epidemie“, přestože byl zpočátku prodáván v lékárnách jako lék na onemocnění ledvin, žaludku, lumbago (ústřel), žlučové kameny a dnu. Počínaje rokem 1736 přišel první zákon z tzv. Gin Acts, jejichž cílem bylo vybalancovat poměr cena/daň za nápoj určený pro většinu populace a současně zvýšit příjmy vlády. Ani zákony konzumaci neomezily, během 19. století však problém intoxikace mezi proletáři oí πολλοί přetrvával a Charles Dickens ve svých románech popisuje hospody známé jako „ginové paláce“, v té době bylo jen v Londýně téměř 10 tisíc obchodů s kořalkami. Podáván byl v síle až 50 % (cit.¹⁹) a někdy, ke vši hrůze, jako terpentýnem ochucený obilný destilát²⁰, což, ve vši úctě, není tak úplně od věci, protože přes 50 % destilovatelné silice z jalovčinek představuje α -pinen²¹, jedna z hlavních složek terpentýnu.

Suché anglické nebo americké giny mají více přidávaných dochucovadel než nizozemské giny, které se také nazývají Holland gins, Geneva, Genever nebo Schiedam (destilační centrum poblíž Rotterdamu), a každá palírna používá svůj recept, který kromě bobulí jalovce používá také byliny, jako jsou kořeny angeliky, kosatce a lékořice, kůry citronu a pomeranče, skořicová kůra, anýz, kmín, kardamom, koriandr a fenykl. Holandské giny nemají příliš výraznou chuť, než aby se dobře kombinovaly s jinými nápoji, a obvykle se podávají samotné nebo s vodou. Ke konci 19. století začali přední londýnští lihovarníci vyrábět nový neslazený gin s přídomkem „suchý“ (t.j. neslazený, dry), a ještě později „suchý Londýnský“ (London dry), na rozdíl od „Plymouth gin“, který je slazený. Obsahem cukru mezi londýnským suchým a plymouthským je „Old Tom gin“.

Gin se pil na lodích královského námořnictva (až s 57 % alkoholu „Navy Strength“) ochucen trochou léčivých hořčin *Angostura* („růžový gin“) údajně proti mořské nemoci²². Gin po smíchání s chininovou vodou sloužil jako specifický prostředek proti malárii v mnoha částech odlehleho britského impéria a dnes přežívá jako „gin-tonik“, a to dokonce v celém vesmíru (jynnan tonnyx, gee-N'-N-T'-N-ix)²³.

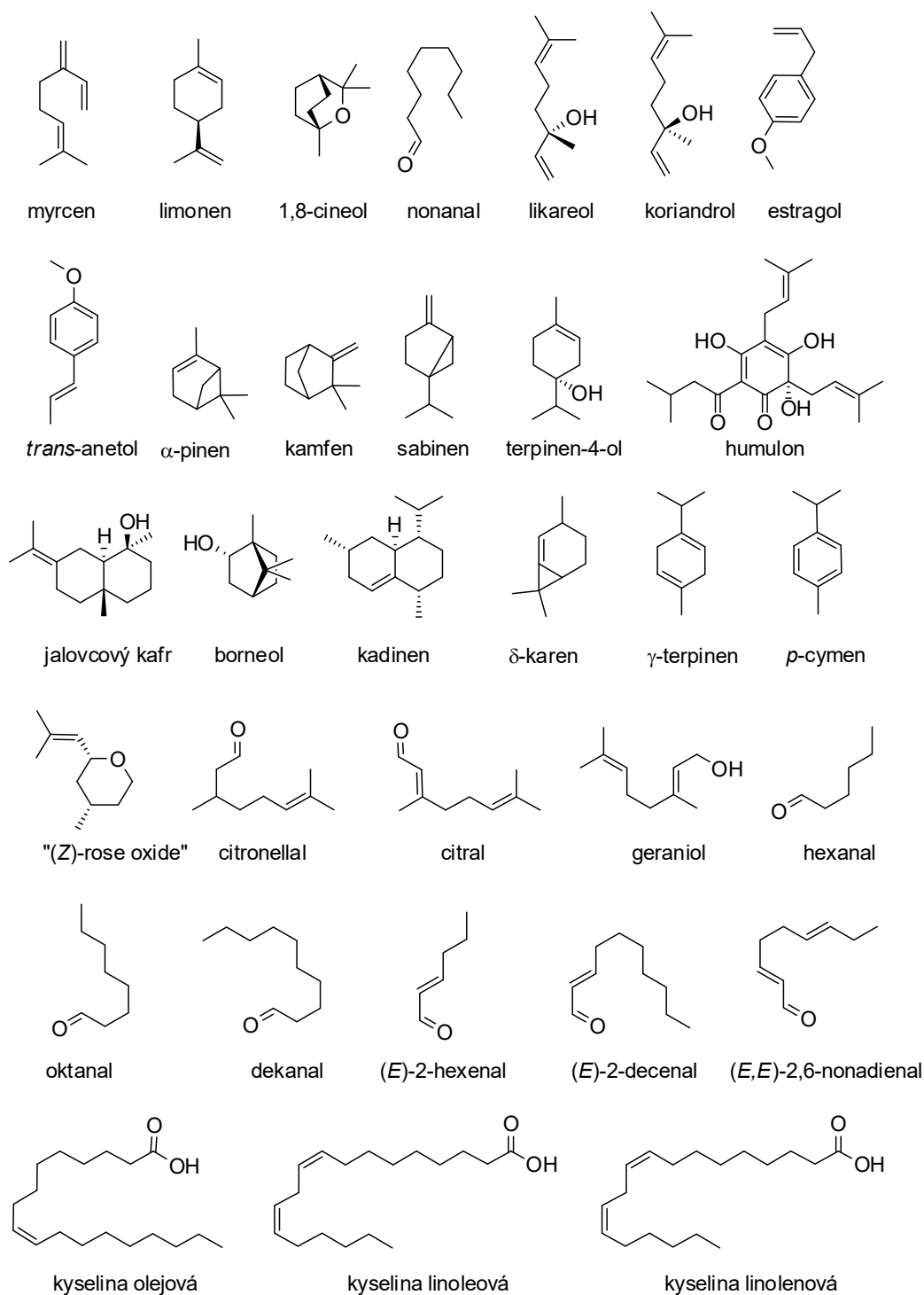
V dnešní době, kdy se na světě vyrobí téměř miliarda litrů ginu ročně (za více než 15 miliard dolarů); s očekávaným ročním přírůstkem 6,7 % je gin velmi dobrou komoditou²⁴. V současnosti jsou hlavními komponentami na výrobu ginu, typu London dry, kromě minimálně 37,5% alkoholu a samičích šištic jalovce obecného (*Juniperus communis* L.), nažky koriandru setého (*Coriander sativum* L.), citronová (*Citrus limon* L.) a pomerančová kůra (*Citrus sinensis*), kůra kassie obecné (*Cassia fistula*), kořen kosatce (*Iris florentina* L.), semena kardamomu (*Elettaria cardamomum* L.), kořen anděliky lékařské (*Angelica archangelica* L.), skořicová kůra (*Cinnamomum zeylandicum*), kořen puškvorce (*Acorus calamus* L.), nažky fenyklu (*Foeniculum vulgare*) a anýzu (*Pimpinella anisum*), nažky šabreje kmínovitého (římský kmín, *Cuminum cyminum* L.), jádra plodů mandloně obecné (*Prunus amygdalus* L.) a kořen lékořice (*Glycyrrhiza glabra*), maximálně 0,1 g l⁻¹ cukru a extrémně nízký podíl methanolu²⁵. Bylo identifikováno přes 70 těkavých složek odpovědných za chuť a vůni londýnského suchého ginu, zejména pocházejících z jalovce a koriandru, monoterpenů, seskviterpenů a jejich oxidovaných derivátů²⁶. Sám jalovec obsahuje až přes 3 % silice. Složení těkavých frakcí z jalovce se značně liší, sestává se hlavně z monoterpenů (58–85 %) s α -pinenem jako hlavní složkou (10–76 %) a z řady dalších monoterpenů, zejména jsou zastoupeny sabinen (1–28 %), β -pinen, β -myrcen, limonen a terpinen-4-ol; malé množství seskviterpenů (2–10 %); aldehydy; alkoholy; a další oxosloučeniny²⁷.

Mezi „aromatické komponenty“ patří zejména myrcen, limonen, 1,8-cineol, nonanal, linalool (směs lika-reolu a koriandrolu), estragol (1-allyl-4-methoxybenzen), *trans*-anetol, ve značně kolísajících koncentracích podle výrobce a značky od 0,6 do 28 mg l⁻¹, dále α -pinen, kamfen, terpinen-4-ol, limonen, humulon, jalovcový kafr, borneol, kadinen, δ -karen, γ -terpinen, *p*-cymen, *rel*-(2*R*,4*S*)-tetrahydro-4-methyl-2-(2-methyl-1-propenyl)-2*H*-pyran ((*Z*)-rose oxide), citronellal, citral, geraniol, hexanal, oktanal, dekanal, (*E*)-2-hexenal, (*E*)-2-decenal, (*E,E*)-2,6-nonadienal, kyseliny olejová, linolová a linolenová²⁵. Obsaženy jsou i flavonoidy a řada bicyklických diterpenů (obr. 1).

Co se týče účinků ginu a jeho složek na lidské zdraví, pokud odhlédneme od samotného alkoholu, podívejme se např. na α -pinen (2,6,6-trimethyl-bicyklo[3.1.1]hept-2-en, 2-pinen, ($\pm$)- α -pinen, Acinten A, Leavo 95, NSC 7727, PC 500, Sylvapin A), jehož je v destilovatelné jalovcové silici i přes 50 % (cit.²¹). Byla popsána široká škála jeho farmakologických aktivit, včetně modulace rezistence na antibiotika, účinek antikoagulační, antimikrobiální, antimykotický, antimalarický, antileishmanický (ničivka), protizánětlivý.

vý, analgetický, anxiolytický, dále gastroprotektivní, cytoprotektivní, antikonvulzivní a neuroprotektivní, jakož i jejich účinek proti oxidačnímu stresu, pankreatitidě, stresem stimulované hypertermii a pulpální bolesti²⁸. Zjištěna byla i inhibiční aktivita na prsní rakovinu a leukemii²⁹, ba

i na další nádory³⁰. Bylo patentováno, že α -pinen může obnovit dopaminový systém poškozený metamfetaminem³¹. Kromě jiného je α -pinen feromonovým atraktantem pro značný počet druhů hmyzu³².



Obr. 1. Hlavní složky odpovědné za chuť a vůni londýnského suchého ginu



(1R,5R)-(+)-α-pinen



(1S,5S)-(-)-α-pinen



(1R,5R)-(+)-β-pinen



(1S,5S)-(-)-β-pinen

Pro pořádek, pineny jsou 4 stereoisomery, (+)-α, (-)-α, (+)-β, (-)-β, které mají velmi nízkou toxicitu³³ a které jsou dokonce značeny pro potravinářství jako GRAS²⁸. Pokud mluvíme o α-pinenu, mluvíme o směsi (+)-α, (-)-α isomerů.

Jalovčinky jsou považovány za diuretikum a močové antiseptikum, antidiabetikum a antihyperlipidemikum, prostředek protizánětlivý, proti nadýmání a vodnatelnosti, stimulují průtok krve v pánevní oblasti a děloze, usnadňují menstruaci, proti migréně, proti revmatickým a bolestivým otokům, stimulují pocení, digestivum a proti mnohým dalším problémům^{21,34,35}. Jalovec byl v Indii zkoumán i jako bylinné orální kontraceptivum³⁶. Silice z jalovčinek byla použita též jako „zdravější“ alternativa k dusitanu sodnému při výrobě za sucha fermentovaných uzenin³⁷, ne nadarmo velí správná „lidová“ udicí praxe (pokud neudíme přímo na kouři z jalovcového dřeva) dát do ohně na konec uzení alespoň jalovcovou větev (v ČR je jalovec bohužel chráněný).

Abychom uvedli informace i z druhé strany, němečtí farmaceuti uvádí, že při dlouhodobém užívání nebo při předávkování plody jalovce může dojít k poškození ledvin, albuminurii a hematurii, negativní účinky jsou připisovány vysokému obsahu monoterpenů, jako jsou pineny, a nízkému obsahu terpinen-4-olu³⁸. Je popsána i otrava jalovcovým dehtem (*Pix juniperi*, obvykle z *Juniperus oxycedrus* používaným kdysi jako dermatologikum), která způsobila horečku, silnou hypotenzi, selhání ledvin, jaterní obtíže a kožní problémy³⁹. (Předávkovat se však lze i sacharosou, je uváděna LD₅₀ = přes 29 g kg⁻¹, cit.⁴⁰.) Pokud by šlo již i o gin a podobné nápoje, je jistě náhledni i poškození jater a další zdravotní rizika.

Aby někdy nedošlo k překladu typu večerní petrklíčový olej (evening primrose oil) či guinejské prasátko (guinea pig), musíme upozornit na fakt, že „cotton gin“ je přístroj na vyzrňování bavlny, a nikoli gin vyrobený z plodů této rostliny.

Přinášíme tento příspěvek jako učební text popisující různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek^{41,42}, i proto, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, polopravd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Je náhledni, že zkoumání přírodních látek jakožto látek z obnovitelných zdrojů je jednou z cest, jak laciným a efektivním způsobem přispět ku všeobecnému prospěchu^{43,44}. Pokud se tak činí s přírodní látkou, která má navíc zanedbatelnou toxicitu, téměř nulové kontraindikace a která je lidstvem používána po tisíce let, je jen dobře.

LITERATURA

1. Zosimos z Panopolisu: *The Book of Pictures „Mushaf as-suwar“*, viz Berthelot M.: *Collection des anciens alchimistes grecs*, sv. 3, str. 161. Paris, 1887–1888. <https://archive.org/details/collectiondesanc01bert/page/n75/mode/2up>, staženo 15. 3. 2021.
2. Doxat J.: *Stirred-Not Shaken: The Dry Martini*, Hutchinson, London 1976.
3. Multhaus R. P.: *The Origins of Chemistry*, Oldbourne, London 1966.
4. Brunschwig H.: *Liber de arte destillandi de Simplicibus*, J. Grueninger, Strassburg 1500; *Liber de arte distillandi de compositis*. J. Grueninger, Strassburg 1507.
5. Partington J. R.: *A History of Chemistry*, Macmillan, London 1961.
6. Český lékopis, http://www.lekopis.cz/Kap_6_1_Juniperifructus.htm, staženo 13. 3. 2021.
7. Koehler U., Koehler N., Weissflog A.: *Dtsch. Med. Wochensh.* 145, 1828 (2020).
8. Nunneley F. B.: *Med. Chir. Trans.* 53, 31 (1870).
9. Dioscorides P.: *De materia medica* (Διοσκοριδῆς Π.: *Περὶ ὕλης ἱατρικῆς*), Kilikie mezi roky 50 až 75 n.l.
10. Lonicar A.: *Naturalis Historiae Opus Novum: ...*, Chr. Egenolphum, Frankfurt 1551. Nové vydání True World Books, Delhi 2017.
11. Wöger K.: *Dtsch. Destillateur-Ztg.* 59, 457 (1938).
12. Halley N.: *The Wordsworth Dictionary of Drink: An A–Z of Alcoholic Beverages*, str. 627. Wordsworth Editions Ware, 2005.
13. Salamon I., Petruska P.: *Indian J. Pharm. Educ. Res.* 51, S479 (2017).
14. Salamon I.: <https://vysetrenie.zoznam.sk/cl/1000657/1743271/Obluben-y-ihlicnan-nezavana-len-alkoholom-Kvapocky-oleja-z-borievok-bolizaludocnym-vsleiekom>, staženo 13. 3. 2021.
15. Vydržel A.: *Codex Agrol, Codex-Agrol-Vydržel*, Olomouc 1935.
16. Štaffl F.: *Likérnický receptář*, Štaffl, Praha 1940.
17. Kolektiv: *Chronica Saccharica Acta*, díl 2, str. 201. Levog Albertov, 1973–1978.
18. Warner J., Her M., Gmel G., Rehm J.: *Am. J. Public Health* 91, 375 (2001).
19. Bonn A.: *Ann. des Falsifications* 2, 505 (1909).
20. https://everything2.com/index.pl?node_id=246150, staženo 13. 3. 2021.
21. Bais S., Gill N., Rana N., Shandil S.: *Int. Scholarly Res. Not.* 2014, 634723.

22. <http://www.angosturabitters.com/history.htm>, staženo 13. 3. 2021.
23. Adams D.: *Restaurant na konci vesmíru*, Argo, Praha 2002.
24. <https://www.statista.com/outlook/cmo/alcoholic-drinks/spirits/gin/worldwide>, staženo 13. 3. 2021.
25. Buck N., Goblirsch T., Beauchamp J., Ortner E.: *Appl. Sci.* 10, 7269 (2020).
26. Vichi S., Riu-Aumatell M., Mora-Pons M., Buxaderas S., López-Tamames E.: *J. Agric. Food Chem.* 53, 10154 (2005).
27. Barjaktarović B., Sovilj M., Knez Ž.: *J. Agric. Food Chem.* 53, 2630 (2005).
28. Salehi B. a 11 spoluautorů: *Biomolecules* 9, 738 (2019).
29. Zhou J. Y., Tang F. D., Mao G. G., Bian R. L.: *Acta Pharmacol. Sin.* 25, 480 (2004).
30. Machado T. Q., Felisberto J. R. S., Guimarães E. F., de Queiroz G. A., da Fonseca A. C. C., Ramos Y. J., Marques A. M., de Lima Moreira D., Robbs B. K. (2021), doi: 10.1080/14786419.2021.1895148.
31. Jang J. H., Lee C.: *Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo* (2020), KR 2020050436 A 20200511.
32. El-Sayed A. M.: *The Pherobase, Database of Pheromones and Semiochemicals*, Hort Research Lincoln, 2021. <https://www.pherobase.com>, staženo 14. 3. 2021.
33. Özbek H., Yilmaz B.: *Acta Pharm. Sci.* 55, 7 (2017).
34. Banerjee S., Singh H., Chatterjee T. K.: *Int. J. Pharm. Bio Sci.* 4, P10 (2013).
35. Pepelnjak S., Kosalec I., Kalodera Z., Blazevič N.: *Acta Pharm.* 55, 417 (2005).
36. Chaudhury R. R.: *Nat. Med. J. India* 6, 199 (1993).
37. Tomovic V. a 10 spoluautorů: *Foods* 9, 1066 (2020).
38. Schilcher H., Emmrich D., Koehler C.: *PZ Wiss.* 6, 85 (1993).
39. Koruk S. T., Ozyilkan E., Kaya P., Colak D., Donderici O., Cesaretli Y.: *Clin. Toxicol.* 43, 47 (2005).
40. European Commission, DG Environment: Appendix 2 Review of Annex IV of the Regulation No. 1907/2006 (REACH), Evaluation of existing entries (2008).
41. Bejček J., Spiwok W., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
42. Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 363 (2021).
43. Kaczorová D., Berés T., Zeljković S. Č., Bjelková M., Kuchař M., Tarkowski A. P.: *Chem. Listy* 114, 277 (2020).
44. Rádl S.: *Chem. Listy* 115, 246 (2021).

M. Jurášek^a, L. Opletal^b, and P. Drašar^a (^a *Department of Chemistry of Natural Compounds, University of Chemistry and Technology, Prague*, ^b *Department of Pharmaceutical Botany and Ecology, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Hradec Králové*): **On Juniper Berries and Juniper Brandy**

Distilled drinks with juniper have been known for centuries for their medicinal capacity as well as for their taste, flavor and popularity. A brief history of such beverages is described and a list of chemical compounds responsible for their taste and aroma is given. The biological properties of the basic taste and aroma components are also presented.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: juniper, juniper berries, gin, borovička, history, biological activity, α -pinene

CHARAKTERIZACE BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V ŘEPÍKU LÉKAŘSKÉM

*Nové pohledy na analytickou chemii**

**ANNA LOUČKOVÁ, KAMILA HŮRKOVÁ a JANA
HAJŠLOVÁ**

*Ústav analýzy potravin a výživy, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
louckova@vscht.cz*

Došlo 17.5.21, přijato 24.5.21.

Klíčová slova: řepík lékařský, UHPLC-HRMS/MS, profil
biologicky aktivních látek

Úvod

Řepík lékařský (*Agrimonia eupatoria*) je vytrvalá bylina z čeledi růžovitých (*Rosaceae*), která obsahuje velké množství biologicky aktivních sloučenin. Jde o sekundární metabolity ze skupiny polyfenolů, především taniny, jejich obsah v sušině dosahuje až 11 %, flavonoidy, kterých obsahuje kolem 1,9 % a fenolové kyseliny^{1,2}.

Řepík je od nepaměti využíván v tradiční medicíně pro své široké spektrum léčivých účinků. I dnes se pro své terapeutické účinky a nízkou toxicitu využívá v medicíně pro přípravu léčivých přípravků, volně v prodeji jsou směsi na přípravu čajů či oplachů pokožky. Pro tyto účely je využívána nať řepíku, a to především pro svůj protizánětlivý účinek. Má díky němu pozitivní efekt na hojení chronických ran, jeho mechanismus ale není dosud detailně popsán^{3,4}. Pro medicínské účely se používají různé připravené extrakty řepíku lékařského. Zastoupení biologicky aktivních složek v daném extraktu samozřejmě závisí na použitém extrakčním činidle. V tradiční medicíně se používají extrakty vodné ve formě odvarů či výluhů, extrakty ethanolové nebo extrakty ve směsi vody a ethanolu, takzvané tinktury^{4–6}.

Cílem této práce je srovnání profilu biologicky aktivních látek obsažených ve vodných extraktech řepíku lékařského připravených alternativními postupy, buď jako odvar nebo výluh, pomocí ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie s vysokorozlišující tandemovou hmotnost-

ní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS) umožňující sledovat rozdíly v obsahu bioaktivních látek.

Experimentální část

Příprava vzorků

Sušená nať řepíku lékařského pocházela z tržní sítě (Byliny Mikeš s.r.o.). Pro přípravu extraktů bylo použito 18 g sušené nati a 1 litr deionizované vody (přečištěná z destilované vody pomocí zařízení Milli-Q, Millipore). V rámci přípravy výluhu byl řepík zalit jedním litrem vroucí vody a 15 min louhován, při přípravě odvaru byl vsypán do litru vroucí vody a 10 min povařen. Extrakty byly zfiltrány přes filtrační papír a alikvotní podíly převedeny do 2 ml vialky pro analýzu.

Instrumentální analýza

K UHPLC-HRMS/MS analýze byl využit kapalinový chromatograf Dionex UltiMate 3000 (Thermo) s kolonou HSS T3 (2,1×100 mm, velikost částic 1,8 μm) (Waters). Teplota kolony byla 40 °C, objem nástriku 2 μl. Pro přípravu mobilních fází byl využit mravenčan amonný (čistota 99 %, Sigma-Aldrich), methanol (Honeywell Riedel-de Haën™), mravenčí kyselina (čistota 98 %, Sigma-Aldrich) a deionizovaná voda (Milli-Q, Millipore). Složky mobilní fáze byly následující: A: 5 mM mravenčan amonný ve vodě s příměsí 0,1 % mravenčí kyseliny, B: 5 mM mravenčan amonný v methanolu s příměsí mravenčí kyseliny. Gradientová eluce začínala v 1. minutě na 95 % vodné složky a 5 % organické složky mobilní fáze, od 8. do 13. minuty byl poměr nastaven na 100 % organické složky



Anna Loučková úspěšně obhájila svou diplomovou práci zaměřenou na problematiku sledování biologicky aktivních látek v léčivých rostlinách vypracovanou na Ústavu analýzy potravin a výživy na Fakultě potravinářské a biochemické technologie Vysoké školy chemicko-technologické v Praze.

Anna Loučková získala 2. místo v celostátní soutěži o nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytická chemie „O cenu Karla Štulíka 2021“.

a od 13. do 15. minuty byl poměr znovu 95 % vodné a 5 % organické složky.

Hmotnostní detekce byla provedena na přístroji TripleTOF™ 6600 (SCIEX) s hybridním hmotnostním analyzátozem typu Q-TOF (kvadrupól ve spojení s analyzátozem doby letu). Použita byla ionizace elektro-sprejem v pozitivním i negativním módu ionizace. Parametry pozitivní ionizace byly: teplota iontového zdroje 500 °C, napětí na kapiláře +5000 V. Parametry negativní ionizace byly: teplota iontového zdroje 450 °C a napětí na kapiláře –4000 V. Kolizní energie byla 35 eV (+/– 15 eV) a rozsah snímaných hodnot m/z byl 100–1200.

Pro vyhodnocení naměřených dat byl použit program PeakView v.2.2 s funkcí MasterView (SCIEX).

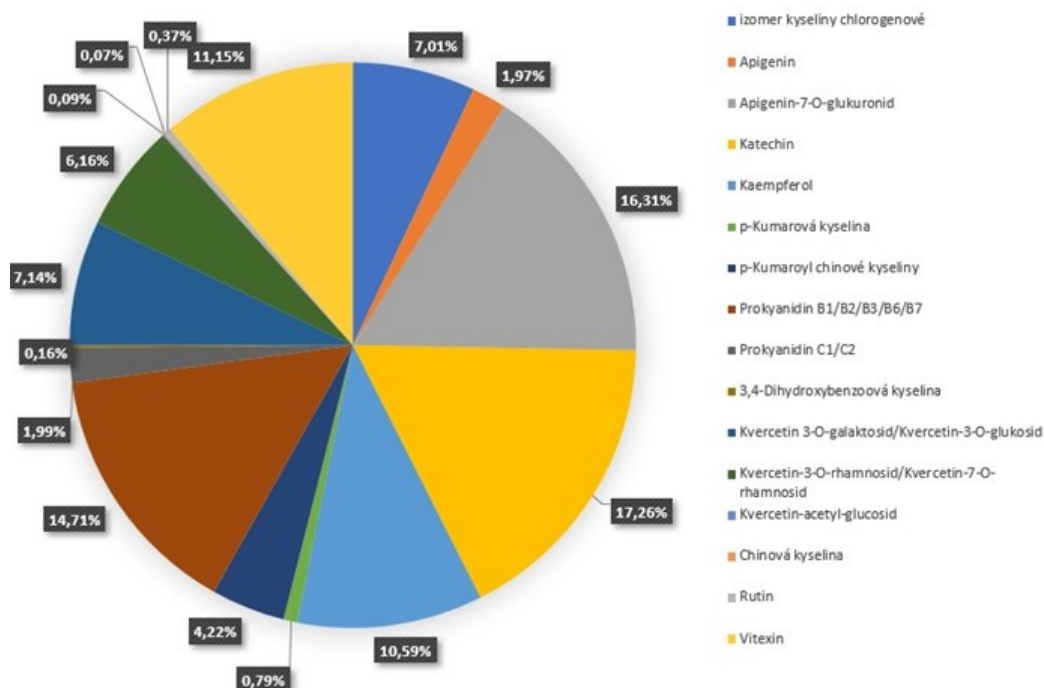
Výsledky a diskuse

U obou extraktů byl proveden cílový screening látek. Dle literatury byla vytvořena databáze biologicky aktivních sloučenin vyskytujících se v řepíku lékařském, která obsahovala sumární vzorce, resp. elementární složení, teoretické přesné hodnoty protonovaných i deprotonovaných molekulových iontů 37 látek ze skupin taninů, flavo-

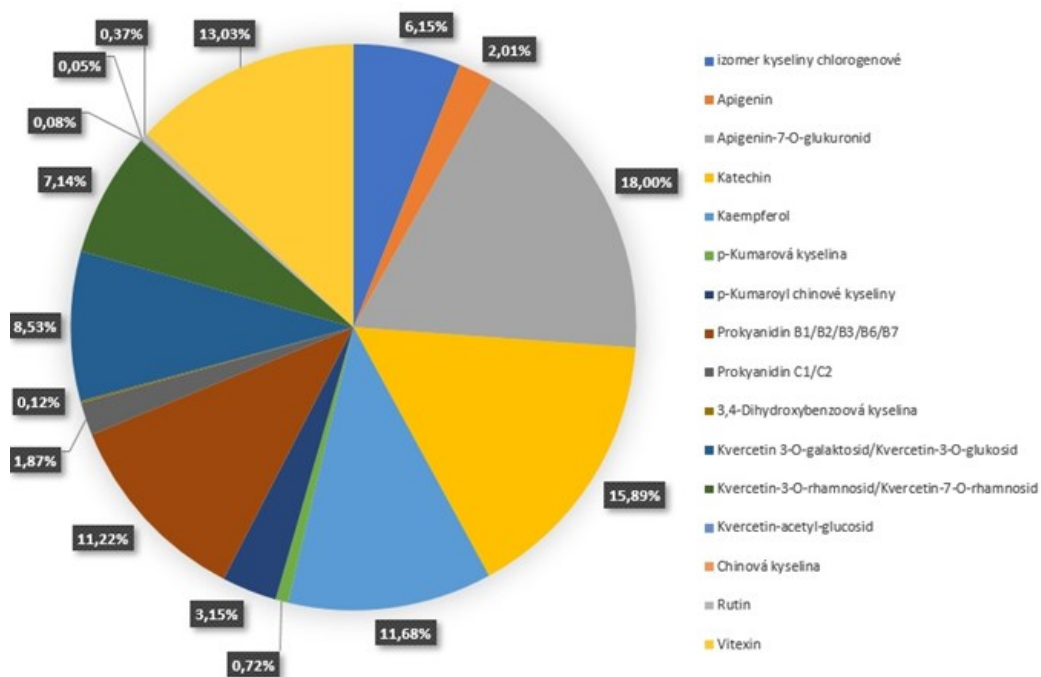
Tabulka I

Přehled identifikovaných sloučenin v obou extraktech řepíku lékařského, jejich retenčních časů a nalezených hmotnostních fragmentů z pozitivního a negativního módu ionizace

Sloučenina	Sumární vzorec	Retenční čas [min]	[M+H] ⁺		[M-H] [–]	
			protonovaný molekulární iont [m/z]	fragменты [m/z]	deprotonovaný molekulární iont [m/z]	fragменты [m/z]
Isomer chlorogenové kyseliny	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	3,25	355,1023	135,179,191	353,0878	135, 179, 191
Apigenin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	5,58	271,0601	153, 271	269,0455	–
Apigenin-7- <i>O</i> -glukuronid	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	5,58	447,0921	153, 271	445,0776	–
Katechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	4,41	291,0863	123, 139,165	289,0717	109, 123,
Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	5,81	287,0550	153, 165,	285,0405	108, 151
<i>p</i> -Kumarová kyselina	C ₉ H ₈ O ₃	3,47	165,0564	91, 119, 147	163,0400	–
<i>p</i> -Kumaroil chinové	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	3,15	339,1074	–	337,0929	163, 191
Prokyanidin B1/B2/B3/B6/B7	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	3,52	579,1497	123, 127, 139, 163, 275, 287, 409	577,1351	125, 289, 407
Prokyanidin C1/C2	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	3,55	867,2130	245, 287, 407, 425, 579	865,1588	–
3,4-Dihydroxybenzoová	C ₇ H ₆ O ₄	0,97	155,0339	–	153,0193	91, 109
Kvercetin 3- <i>O</i> -galaktosid/Kvercetin-3- <i>O</i> -glukosid	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	5,47	465,1027	85, 127, 153, 303	463,0673	255, 271, 300, 301
Kvercetin-3- <i>O</i> -rhamnosid/Kvercetin-7- <i>O</i> -rhamnosid	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	5,81	449,1078	85, 287, 303	447,0968	151, 178, 229, 301
Kvercetin-acetylglukosid	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	5,8	507,1133	303	505,0987	255, 271, 300, 301, 463
Chinová kyselina	C ₇ H ₁₂ O ₆	0,7	193,0706	–	191,0561	59, 85, 93
Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	5,46	611,1606	–	609,1461	300, 301
Vitexin	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	5,36	433,1129	283, 313, 349	431,0983	281, 283, 311, 341, 353



Obr. 1. Graf relativních intenzit jednotlivých sloučenin v odvaru řepíku lékařského, data z pozitivního módu ionizace; barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemické listy



Obr. 2. Graf relativních intenzit jednotlivých sloučenin ve výluhu řepíku lékařského, data z pozitivního módu ionizace; barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemické listy

noidů a fenolových kyselin. Na základě analýzy byla potvrzena přítomnost 16 látek z vytvořené databáze. Jednalo se o 8 látek ze skupiny flavonoidů, 2 ze skupiny taninů a 6 ze skupiny fenolových kyselin. Jejich výčet je uveden v tab. I.

Identifikace sloučenin byla prováděna s pomocí funkce MasterView programu PeakView, která na základě zhodnocení shody naměřené molekulové hmoty sledovaného iontu, retenčních časů, izotopového profilu a vložených dat vyhodnotí přítomnost či nepřítomnost dané látky. Potvrzení bylo provedeno na základě shody naměřených fragmentačních spekter látek a spekter dostupných z internetové databáze Metlin (https://metlin.scripps.edu/landing_page.php?pgcontent=mainPage), případně dle shody s literaturou.

Chromatografické profily obou typů vodných extraktů byly prakticky shodné, rozdíl byl pozorován pouze v celkové intenzitě signálu detekovaných metabolitů výluhu.

Jak dokumentují obr. 1 a 2, dominantně byly zastoupeny látky ze skupiny flavonoidů, které tvořily 59–63 % relativního zastoupení identifikovaných látek. Skupina fenolových kyselin tvořila kolem 23 %. Taniny byly zastoupeny v nejmenším procentu (13–16 %) a jednalo se o látky typu prokyanidinů. Ačkoli se dle literatury v řepíku vyskytují prokyanidiny různého typu (např. prokyanidin B1, B2, B3, B6, B7), byly identifikovány pouze jako suma všech těchto látek, jelikož se jedná o isomery a v rámci chromatografické separace se nerozdělily.

Závěr

Cílový screening technikou UHPLC-HRMS/MS umožnil prokázat přítomnost dominantních biologicky aktivních látek ve vodných extraktech řepíku lékařského. Pro jejich kvantifikaci bude třeba mít k dispozici analytické standardy čistých sloučenin. V navazujícím výzkumu bude studován celý metabolom různě připravených extraktů řepíku lékařského pomocí necílového screeningu (fingerprintingu); porovnávána bude i jejich biologická aktivita.

Tato práce byla podpořena projektem výzkumné infrastruktury METROFOOD-CZ (MEYS grant č.: LM2018100).

LITERATURA

1. Muruzovic M. Z., Mladenovic K. G., Stefanovic O. D., Vasic S. M., Comic L. R.: *J. Food Drug Anal.* **24**, 539 (2016).
2. Tobyn G., Denham A., Whitelegg M., v knize: *Medical Herbs* (Tobyn G., Denham A., Whitelegg M., ed.), str. 47. Churchill Livingstone, Edinburgh 2011.
3. Kuczmanna A., Gal P., Varinska L., Trembl J., Kovac I., Novotny M., Vasilenko T., Dall'Acqua S., Nagy M., Mucaji P.: *Molecules* **20**, 20538 (2015).
4. Paluch Z., Biriczova L., Pallag G., Marques E.C., Vargova N., Kmonickova E.: *Physiol. Res.* **69**, 555 (2020).
5. Correia H., Gonzalez-Paramas A., Amaral M. T., Santos-Buelga C., Batista M. T.: *Biomed. Chromatography* **20**, 88 (2006).
6. Santos T. N., Costa G., Ferreira J. P., Liberal J., Francisco V., Paranhos A., Cruz M. T., Castelo-Branco M., Figueiredo I. V., Batista M. T.: *Evidence-Based Complimentary Alternative Medicine* **2017**, 13 8309894.

A. Loučková, K. Hůrková, and J. Hajšlová
(*Department of Food Analysis and Nutrition, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Characterization of Biologically Active Compounds in *Agrimonia eupatoria***

Agrimonia eupatoria is a plant widely used in traditional medicine due to its wide range of healing effects. These include, for example, the positive effect on the healing of chronic wounds which is attributed to the content of various bioactive substances but the exact mechanism of this effect of *Agrimonia* is not known. In this work, two differently prepared aqueous extracts of *Agrimonia* were analysed in order to describe the differences between their contents of bioactive substances. First extract was prepared by pouring hot water over *Agrimonia* with subsequent leaching; second extract (decoction) was prepared by boiling *Agrimonia* in water. Instrumental analysis of prepared extracts was performed by ultra-high performance liquid chromatography coupled to high-resolution tandem mass spectrometry (UHPLC-HRMS/MS) and the target screening in extracts was performed according to the database of substances created by us from the data obtained from the literature. The database of substances contained 37 compounds from the groups of tannins, flavonoids and phenolic acids. Based on the analysis and identification of substances, the presence of 16 substances out of 37 was confirmed. The extracts showed minimal differences in the contents of substances, differing only in their total amount which was higher in the extract prepared by leaching.

Keywords: *Agrimonia eupatoria*, UHPLC-HRMS/MS, contents of bioactive substances

Acknowledgements

This work was supported by METROFOOD-CZ research infrastructure project (MEYS Grant No: LM2018100) including access to its facilities.

O ZÁZRAČNÉ MOCI „KOŘENE JELENA MARALA“*

MICHAL JURÁŠEK^a, LUBOMÍR OPLETAL^b,
JURAJ HARMATHA^c, KAREL SLÁMA^d
a PAVEL DRAŠAR^a

^a Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Katedra farmaceutické botaniky, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, ^c Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6, ^d Laboratoř fyziologie hmyzu, Evropská 674, 160 00 Praha 6
drasarp@vscht.cz

Došlo 3.5.21, přijato 15.5.21.

Klíčová slova: maralí kořen, Lou Lu, parcha saflorovitá, orientální medicína, lidové léčitelství, látky zvyšující proteosyntézu, 20-hydroxyekdyson

Obsah

1. Botanické zařazení a použití v tradiční medicíně
2. Parcha v dnešní farmakologii a fytoterapii
3. Obsahové látky parchy
4. 20-Hydroxyekdyson
5. Biologické účinky 20-hydroxyekdysonu
6. Poznámky na závěr

1. Botanické zařazení a použití v tradiční medicíně

Již dávní jihosibiřští osadníci (stejně jako dávní Římané, kteří natírali lokomotivy suřikem¹) zjistili, že jeleni



Obr. Wikipedia

maralové (*Cervus elaphus sibiricus*, Caspian red deer, олен-марал) se po dlouhé a vyčerpávající zimě obvykle živí a tím i posilují vyhrabávanými kořeny víceleté rostliny podobné bodláku maralu čili parchy saflorovitě/saflorové (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin, někdy též *Leuzea carthamoides* (Willd.) DC., *Cnicus carthamoides* Willd., *Stemmacantha carthamoides* (Willd.) Dittr.), endemické na Sibiři, nyní pěstované na celém světě,

a upevňují si tak své zdraví. Mezi Sibiřany bylo dlouho známo, že tato bylina „omlazuje“ a pomáhá udržovat „well-being“. Orientální medicína používala kořeny parchy již před tisícovkami let k potlačení tepla (podle tradiční čínské medicíny (TCM)) a toxických otoků, zánětů, infekce, jako antivirální a antibakteriální prostředek; též ke zvýšení produkce moči a mateřského mléka. Byly také používány² při onemocnění ledvin a plic, hepatitidě nebo tonsilitidě (angina)³. TCM tuto rostlinnou drogu zná jako Lou Lu (漏芦 či 漏蘆, i když někdy jde o kořeny podobných rostlin jako *Echinops latifolius* Tausch. či *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC; taxonomie těchto rostlin není jednoduchá^{4,5}). Encyklopedie TCM udává, že „čistí teplo“ a „odstraňuje toxicitu“; léčí absces a odblokuje meridiány, podporuje laktaci, uvolňuje šlachy a odblokuje krevní řečiště. Dále je indikován na bolest prsu a prsní absces s bolestivým otokem, krtičnatost a boláky; galaktostázu (zástavu tvorby mléka), bolesti způsobené vlhkostí (dle TCM) a křeče. Doporučuje nálev z 5–9 g. Nedoporučuje podávat těhotným ženám.

2. Parcha v dnešní farmakologii a fytoterapii

Koncem léta a na podzim se zpracovávají a suší hlavně drátovité kořeny (*Leuzeae radix*, *Rhizoma cum radicibus Leuzeae*, někdy označované i jako *Radix Rhapontici*, či „Uniflower Swisscentaury Root“). Tyto sušené kořeny jsou v dalším textu označovány jako parcha. Droga obsahuje ekdysteroidy, steroly a jejich estery, triterpeny, silici, uhlovodíky, polyiny, trísloviny, kumariny, flavonoidy a seskviterpenové laktony, thiofeny, anthocyany, triacylglyceroly, fenolové kyseliny, mastné kyseliny a *N*-feruloylserotonin^{6,7}.

Parcha je uvedena v ruském lékopise od roku 1961 a používá se jako rostlinná droga v lékařství i v našich krajích^{8,9}. Významným zastáncem jejího používání je N. Timofeev¹⁰. Užívanou částí je kořen, ale může se užít i list. Prokazuje tonizační a imunostimulační účinky podobné ženšenu. Povzbuzuje mentální aktivitu, stimuluje životní procesy, pomáhá v adaptaci organismu na stres, příznivě ovlivňuje činnost srdce a cév^{11,12}. Popsáno je zvýšení proteosyntézy (někdy nazývané jako účinek anaboličtý)^{13–15} aniž, na rozdíl od androgenních steroidních anabolik, by vyžadoval spolu s administrací i fyzickou zátěž. Je popsáno odstranění syndromu chronické únavy, snížení únavy nervů a svalů, zlepšení procesů využití paměti a zlepšení pozornosti¹⁶, protizánětlivé působení¹⁷, použití jako neurostimulátoru, afrodiziaka a obecně při psychické a fyzické zátěži organismu. Působí velmi dobře při astenii

* V článku je pro steroidy použito „ekdysteroidářské“ polotriviální názvosloví

a depresích, což ji předurčuje k využití v psychiatrické a neurologické praxi. Byla také s úspěchem použita při léčbě diabetu, především lehčích forem. Podporuje trávení a odstraňuje nechutenství, užívá se při rekonvalescenci a bolestech hlavy. Mírně zvyšuje krevní tlak, avšak některé klinické pokusy ukázaly naopak antihypertenzní účinky. Dobrých výsledků bylo dosaženo také při léčení pacientů s pohlavní impotencí. Snižuje hladinu cukru, tuků a cholesterolu v krvi, má příznivý vliv na činnost jater a také na kardiovaskulární systém. Velmi zajímavá je schopnost usnadňovat vybavení dynamického stereotypu, určitou dobu necvičeného, zlepšení učení a paměti bez vedlejších účinků na organismus. Je použita i jako složka směsí podporujících mužské sexuální funkce¹⁸, případně pro zvýšení libida kanců¹⁹. Nelze se divit, že v časech koronavirové pandemie byl mj. zkoumán i extrakt z parchy jako antivirový a imunomodulační prostředek²⁰ k léčení osob s infekcí COVID-19. Prokázán byl i antimikrobiální, a antioxidační efekt oleje z kořenů parchy²¹.

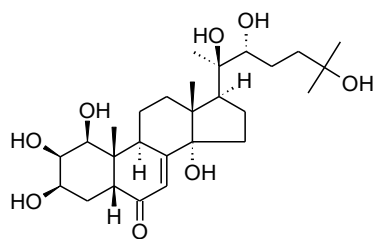
Zajímavé výsledky²² byly zaznamenány použitím ethyl-acetátového extraktu parchy na nádorové linie dlaž-

dicových buněk jazyka (SCC-15). Podobné výsledky byly popsány i u linie plicní rakoviny²³ (Calu-1). Extrakt z parchy u krys fungoval jako profylaktikum vzniku nádorů indukovaných radioaktivním zářením²⁴.

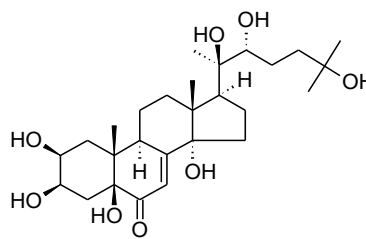
Pro používání parchy existuje několik upozornění. Těhotné a kojící ženy by se pro jistotu měly parchy vyvarovat (což je v rozporu s TCM). Lidé alergičtí na rostliny z čeledi hvězdnicovitých by měli zvážit konzultaci se specialistou. Parcha může zpomalit srážení krve, tudíž by neměla být používána min. 2 týdny před plánovanou operací²⁵.

3. Obsahové látky parchy

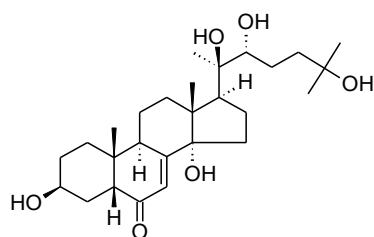
Hlavní obsahové látky parchy jsou polyhydroxylované steroly nazývané ekdysteroidy (obr. 1). Zde bychom rádi upozornili na velmi dobře udržovanou databázi Ecdybase²⁶, která obsahuje více než 500 položek jak fytoekdysteroidů, tak zooekdysteroidů, z nichž některé jsou hmyzí hormony svlékání a metamorfózy členovců.



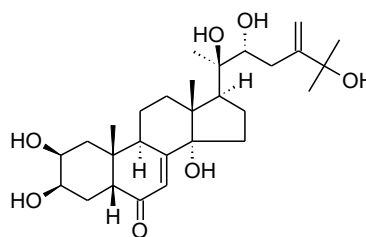
integristeron A



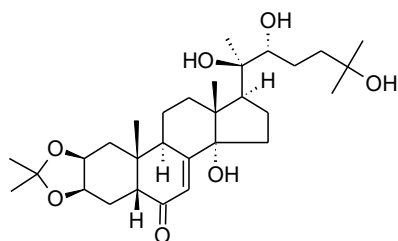
polypodin B



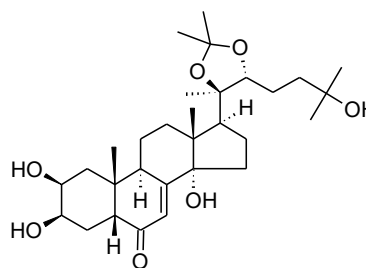
2-deoxyekdysteron



24(28)-dehydromakisteron A



20-hydroxyekdyson-2,3-monoacetonid



20-hydroxyekdyson-20,22-monoacetonid

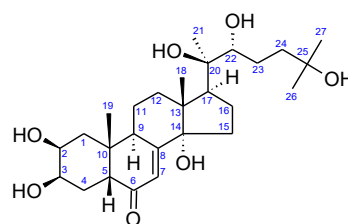
Obr. 1. Hlavní ekdysteroidy parchy (kromě 20-hydroxyekdysonu)

Usušené kořeny parchy obsahují kolem 16 % bílkovin, 2,5 % tuků, 16 % vlákniny a 11 % minerálních látek. Kořeny obsahují, kromě ekdysteroidů, nepatrné množství alkaloidů, až 0,9 % silice, 5–10 % tříslovin, 12–13 % inulinu, dále pryskyřici, kumariny a flavonoidy. Nejvíce látek z rostliny se dostane do tinktury, kdy kořen je eluován 50 až 60% ethanol²⁷. Mezi hlavní fytoekdysteroidy z parchy patří 20-hydroxyekdyson, polypodin B, makisteron A, ajugasteron C, 20-hydroxyekdyson-2,3-acetonid, 20-hydroxyekdyson-20,22-acetonid, 20-hydroxyekdyson-2,3;20,22-di-acetonid, polypodin-B-20,22-acetonid a isovitexiron^{28,29}. Během pozdější doby pak byla izolována a identifikována ještě série dalších minoritních ekdysteroidů z kořenů *L. carthamoides*^{30,31}. Ecdybase udává různé obsahové ekdysteroidy pro *Rhaponticum carthamoides* a pro *Leuzea carthamoides*, nezbývá tedy uvést jejich průnik (jsou ponechány anglické názvy, podle abecedy): (5 α)-20-hydroxyekdyson (epiecdysterone), 14-epi-ponasterone a 22-glucoside, 15-hydroxyponasterone A a C, 1 β -hydroxymakisterone C, 20-hydroxyekdyson 2,3;20,22-di-acetonide, 20-hydroxyekdyson 2,3-monoacetonide, 20-hydroxyekdyson 20,22-monoacetonide, 22-deoxy-28-hydroxymakisterone C, 22-oxo-20-hydroxyekdyson, 24(24¹)[Z]-dehydroamarasterone B, 24(24¹)-dehydro-24²-hydroxymakisterone C, 24(28)-dehydromakisterone A, 24-hydroxy-24,28-dihydrocarthamosterone, 26-hydroxymakisterone C, 3-epi-20-hydroxyekdyson, ajugasterone C, carthamoleusterone, carthamosterone A a B, dacryhainansterone (5-deoxykaladasterone), inokosterone 20,22-acetonide, integristerone A, integristerone A 20,22-acetonide, isovitexirone, lesterone, leuzeasterone, makisterone A a C (podecdyson A, lemmasterone), polypodine B, polypodine B 20,22-acetonide, polypodine B 22-benzoate, poststerone, rapisterone B a C a D, rapisterone D 20-acetate, rubrosterone, taxisterone, turkesterone.

Podobné složení obsahových látek, hlavně co se týče hlavních ekdysteroidů, má i řada příbuzných rostlin, lze říci, že schopnost produkovat ekdysteroidy je v rostlinné říši široká, neboť se soudí, že fungují mj. jako protipožerová ochrana rostlin. V rostlinách a houbách pěstovaných pro potravinářské účely se obecně mnoho ekdysteroidů nenalézá s výjimkou quinoi a špenátu; zde je zřejmě anabolická aktivita 20-hydroxyekdysonu podstatou fyzické zdatnosti bájného Pepka námořníka³².

4. 20-Hydroxyekdyson

Nejhojnějším a nejčastěji studovaným fytoekdysteroidem je 20-hydroxyekdyson: (2 β ,3 β ,5 β ,22 R)-2,3,14,20,22,25-hexahydroxycholest-7-en-6-on. V literatuře můžeme látku najít i pod dalšími názvy: (+)-20-hydroxyekdyson, (+)-ecdysterone, commisterone, crustecdysone, β -ecdysone, ecdysten, ecdysterone, ekdisten, isoinokosterone, polypodine A, polypodine C, THE 7, viticosterone, 20E, 20-OHE.



20-hydroxyekdyson

20-Hydroxyekdyson je důležitý steroidní hmyzí hormon, který reguluje embryonální vývoj, líhnutí, metamorfózu a reprodukci členů kmene Arthropoda. Dobře byla prostudována jeho biochemie u hmyzu. Jeho prekursor ekdyson je syntetizován z cholesterolu v potravě v prothorakálních žlázách hmyzu, je vylučován do hemolymfy a oxidován na 20E v periferních tkáních, jako jsou tukové tkáně³³. Halloween geny, které kódují monooxygenasy cytochromu P450, jsou zapojeny do několika kroků biosyntézy. 20-Hydroxyekdyson aktivuje geny související se svlékáním a metamorfózou prostřednictvím heterodimeru EcR/USP, který patří do nadrodiny jaderných receptorů (genomová akce). Také moduluje intracelulární signalizační kaskády prostřednictvím specifických transmembránových span GPCR (negenomová akce). Mezi hlavní reakce přispívající k jeho deaktivaci (metabolismu) patří epimerizace, tvorba kyseliny ekdysonové, fosforylace, acylace mastnými kyselinami a glukosylace³⁴.

Biosyntéza 20-hydroxyekdysonu začíná, např. u octomilky obecné, u cholesterolu. Zpočátku je modifikován cholesterol 7-desaturasou za vzniku 7-dehydrocholesterolu. V endoplazmatickém retikulu je dále modifikován cytochromem p450 307a1 za vzniku diketolu. Diketol může také spontánně tvořit 3 β ,5 β -ketodiol, který je modifikován v endoplazmatickém retikulu cytochromem p450 306a1 za vzniku 3 β ,5 β -ketotriolu. V mitochondriích je potom 3 β ,5 β -ketotriol modifikován cytochromem p450 302a1 za vzniku 2-deoxyekdysonu a poté cytochromem 315a1 za vzniku ekdysonu, který je ekdyson 20-monooxygenasou v mitochondriích oxidován na 20-hydroxyekdyson³⁵. V rostlinách (*Ajuga*) je biosyntéza podobná³⁶, ale místo 7-dehydrocholesterolu probíhá přes 3 β -hydroxy-5 β -cholest-7-en-6-on.

Získávání 20-hydroxyekdysonu je odkázáno na rostlinnou říši³⁷. Jako jeho zdroj může být použito mnoho druhů rostlin (i semenných) včetně hub³⁸, mechorostů a kapradin³⁹. Vyskytuje se i v říši živočišné, např. v bourci morušovém, langustě *Jasus lalandii* a mnoha členovcích a bezobratlých, měkkýších, v parazitických červech²⁶ a mořské sasance *Zoanthus*⁴⁰. Největší obsah v rostlinné droze (téměř 2 %) byl nalezen v opět bodláku podobné rostlině *Serratula coronata* (hvězdnicovitě)⁸. Naše parcha obsahuje v nadzemních částech 0,02–0,4 % a v kořenech 0,04–0,24 % 20-hydroxyekdysonu.

I přes 7 kyslíkatých substitucí na skeletu steroidu má 20-hydroxyekdyson malou rozpustnost ve vodě (pouze 84 mg l⁻¹). Rozpustnost se zvýší 105krát vytvořením komplexu s β -cyklodextrinem⁴¹. Podstatně rozpustnější je v alkoholech (MeOH 75 g l⁻¹, EtOH 5 g l⁻¹ a 70% EtOH

61 g l⁻¹), stejně jako další hydroxylované steroidy se rozpouští dobře i ve směsích jako chloroform-MeOH (2:1, 32 g l⁻¹), cit.⁴². 20-Hydroxyekdyson je využíván jako emulgátor a povrchově aktivní látka⁴³.

Čistý 20-hydroxyekdyson o čistotě až 99 % se dá dnes v Číně koupit za rozumnou cenu. Jedná se o produkt izolovaný z různých druhů *Cyanotis* (*Commelinaceae*, křížatkovité). Na kvalitu je třeba dát pozor a vyžádat si před nákupem analytická data.

5. Biologické účinky 20-hydroxyekdysonu

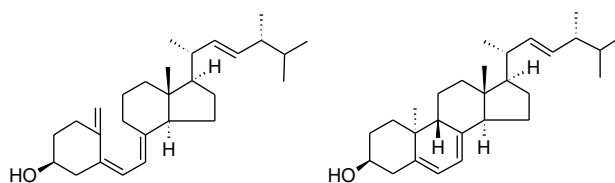
Toxicita ekdysonu je velmi nízká LD₅₀ (myš) 6,4 g kg⁻¹ intraperitoneálně⁴⁴ a >9 g kg⁻¹ orálně⁴⁵, což umožňuje jeho široké používání. Někdy je též označován za legální doping nejen východní Evropy^{46,47}.

20-Hydroxyekdyson patří mezi významné adaptogeny. Jeho podávání může pomoci dosáhnout nespecifického stavu vysoké odolnosti organismu. Hypotetickým mechanismem účinku adaptogenů jsou prostressory, které snižují nadměrné zvýšení mediátorů stresu při následující expozici stresu¹⁶.

Recentně byl publikován obsáhlý přehled využití 20-hydroxyekdysonu v humánní medicíně⁴⁸. Některé účinky jsou uvedeny i v tomto přehledu. 20-Hydroxyekdyson byl použit pro vývoj nových přístupů k léčbě sarkopenie, Duchennovy muskulární dystrofie a dalších stavů ochabování svalů^{8,49}, zřejmě pro zvýšení syntézy bílkovin a regeneraci kosterního svalstva⁵⁰. Zlepšení stavu svalstva může být spojeno s účinkem na zvýšení produkce ATP ve sva-lech⁵¹. V roce 2018 byl schválen jako léčivý přípravek pro vzácná onemocnění podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 141/2000 (cit.⁵²). Látka byla použita v mnoha studiích k potlačení důsledků estrogenní deficiencie⁵³. Bylo publikováno použití 20-hydroxyekdysonu proti filáriím⁵⁴. V letech 2019–2020 proběhly též klinické testy s cílem prozkoumat možnost zlepšení stavu prediabetiků⁵⁵. V roce 2021 byl zahájen klinický test⁵⁶ na zlepšení dýchacích funkcí i u pacientů s COVID-19. Bylo popsáno, že zlepšuje metabolické a kardiovaskulární funkce u potkanů s ovariektomií na dietě s vysokým obsahem tuků a fruktosy⁵⁷, může fungovat jako hepatoprotektivum⁵⁸ a imunoaktivní látka⁵⁹. Byla zaznamenána i jeho aktivita proti viru dengue typ 2 (DENV-2)⁴⁰ a možnost použití při léčbě bobří horečky, giardiázy, infekce v tenkém střevě způsobené parazitem *Giardia lamblia*⁶⁰, hymenolepiasie způsobené parazitem *Hymenolepis*⁶¹. Studován byl i vliv na experimentální arytmiie, změny hemodynamiky a kontraktility myokardu produkovaného okluzí koronární arterie⁶². Imunomodulační vlastnosti 20-hydroxyekdysonu ani jeho běžně dostupných derivátů nebyly prokázány na jedné straně⁶³ a na druhé straně jinými autory byly popsány^{64,65}. Bylo prokázáno, že zlepšuje sexuální funkce u mužů trpících nízkým počtem spermií, špatnou pohyblivostí spermií, erektilní dysfunkcí nebo nízkým libidem při zotavení z infarktu⁶⁶. Popsáno bylo použití ekdysteroidů pro přípravu dermatologických nebo kosmetických prostředků proti vypadávání vlasů⁶⁷ a k léčení ran⁶⁸.

Již od roku 1979 probíhá intenzivní výzkum působení 20-hydroxyekdysonu na nejrůznější nádory. K nejzajímavějším výsledkům patří výzkum 20-hydroxyekdysonu k potlačení rezistence nádorů k protinádorovým lékům^{69,70}, což bylo pozorováno i u jeho syntetických derivátů^{71,72}.

Obecně lze ekdysteroidy zařadit mezi přírodní látky, u kterých probíhá intenzivní výzkum možností léčení rakoviny^{73,74} a leukemie⁷⁵; zajímavé je použití ekdysteroidů k léčení těchto chorob^{76,77} společně s bufadienolidy⁷⁸. V roce 2019 byl 20-hydroxyekdyson popsán jako vitamin D1 (cit.⁷⁹). Vitamin D1 (CAS RN 520-91-2) byl popisován⁸⁰ od roku 1932 jako ekvimolární směs (komplex) ergokalciferolu (vitaminu D2) s lumisterolem (stereoisomer ergosterolu s opačnou konfigurací na atomech C-9 a C-10), což bylo zjištěno i na základě krystalografické studie⁸¹.



ergokalciferol (vitamin D2)

lumisterol

Sběratel může zakoupit plyšový model vitaminu D od firmy Giant Microbes za 9,95 USD.



6. Poznámky na závěr

Léčivé a hlavně adaptogenní účinky čajů, extraktů a jiných produktů získávaných z parchy se nemusí opírat jen o jejich obsahové látky ekdysteroidního typu. Dalšími faktickými nositeli účinků mohou být i obsahové látky typu polyfenolového. Například lignanové a feruloylseratoninové deriváty získané ze semen *L. carthamoides*⁸² projevíly protizánětlivé účinky v testech na artritidu⁸³ nebo ochranné účinky v průběhu oxidačního stresu v lidských neutrofilech⁸⁴. Neméně zajímavou je i prokázaná možnost potlačení vnímání bolesti a stavu úzkosti či neklidu u experimentálních laboratorních zvířat^{85,86}. Podobné účinky mohou významně pomáhat v adaptaci organismu na stres především po vyčerpání organismu dlouhodobým hladem, fyzickým vyčerpáním, či třeba extrémním výkonnostním sportem.

Moderní přístupy k tzv. „repurposingu“, použití schválených lékových substancí k léčení chorob, pro které

původně nebyly určeny, je jednou z cest, jak laciným a efektivním způsobem přispět v rámci lékařských věd k všeobecnému prospěchu. Pokud se tak činí s přírodní látkou získanou z obnovitelných zdrojů, která má navíc zanedbatelnou toxicitu, téměř nulové kontraindikace a která je lidstvem používána po tisíce let, je jen dobře.

Přinášíme tento příspěvek jako text popisující různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek^{87,88} i proto, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, polopравd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Je nabíledni, že zkoumání přírodních látek, jakožto látek z obnovitelných zdrojů, je jednou z cest, jak laciným a efektivním způsobem přispět k všeobecnému prospěchu^{89,90}.

LITERATURA

- Žák K.: *Cesta do hlubin študákovy duše*, Karel Synek, Praha 1938.
- <https://www.meandqi.com/herb-database/maral-root>, staženo 23. 2. 2021.
- Łotocka B., Gieszprych A.: *Bot. J. Linn. Soc.* 144, 207 (2004).
- Vorobyeva A., Gorovoy P.: *Collectanea Botanica* (Barcelona) 29, 25 (2010).
- Holub J.: *Folia Geobot. Phytotax.* 8, 377 (1973).
- Kokoska L., Janovska D.: *Phytochemistry* 70, 842 (2009).
- Stránský K., Němec V., Sláma K.: *Fiziol. Rast.* (Moscow) 45, 333 (1998).
- Dinan L., Lafont R.: *J. Endocrinol.* 191, 1 (2006).
- Dinan L., Balducci C., Guibout L., Lafont R.: *Phytochem. Anal.* 31, 643 (2020).
- https://leuzea.ru/leuzea_ecdysteroids.htm, staženo 27. 4. 2021.
- Varga E., Szendrei K., Hajdu Z., Hornok L., Csaki G.: *Herba Hungarica* 25, 115 (1986).
- https://ru.wikipedia.org/wiki/Рапонтикум_сафлоровидный, staženo 21. 2. 2021.
- Slama K., Koudela K., Tenora J., Mathova A.: *Experientia* 52, 702 (1996).
- Bathori M., Toth N., Hunyadi A., Marki A., Zador E.: *Curr. Med. Chem.* 15, 75 (2008).
- Parr M. K., Botrè F., Naß A., Hengevoss J., Diel P., Wolber G.: *Biol. Sport* 32, 169 (2015).
- Volodini V. V., Sidorova Y. S., Mazo V. K.: *Voprosy Pitaniya* 82, 24 (2013).
- Peschel W., Kump A., Prieto J. M.: *J. Pharm. Pharmacol.* 63, 1483 (2011).
- Buraga L. P., Batchaev A. M., Dzhanibekova E. M.: *Russ. RU* 2367465 C1 20090920 (2009).
- Rozkot M., Opletal L., Čerovský J., Frydrychová S., Lustýková A.: *Czech. CZ* 308282 B6 (2020).
- Babich O., Sukhikh S., Prosekov A., Asyakina L., Ivanova S.: *Pharmaceuticals* 13, 313 (2020).
- Skala E. a 9 spoluautorů: *Oxid. Med. Cell Longev.* 2016, 8505384.
- Chen H., Wang C., Qi M., Ge L., Tian Z., Li J., Zhang M., Wang M., Huang L., Tang X.: *Front. Pharmacol.* 8, 870/1 (2017).
- Martucciello S., Paoletta G., Muzashvili T., Skhirtladze A., Pizza C., Caputo I., Piacente S.: *Chem.-Biol. Interact.* 279, 43 (2018).
- Ivanov S. D., Bespalov V. G., Semenov A. L., Kovan'ko E. G., Aleksandrov V. A.: *Bull. Exper. Biol. Med.* 160, 705 (2016).
- <https://www.webmd.com/vitamins/ai/ingredientmono-1467/maral-root>, staženo 23. 2. 2021.
- Lafont R., Harmatha J., Marion-Poll F., Dinan L., Wilson I. D.: *The Ecdysone Handbook*, 3. vyd., online, <http://ecdysbase.org>, staženo 23. 2. 2021.
- https://www2.f.jcu.cz/~moudry/databaze/leuzea_saflorova.htm, staženo 23. 2. 2021.
- Bastaev U. A., Abubakirov N. K.: *Chem. Nat. Compd.* 23, 565 (1987).
- Piš J., Buděšínský M., Vokáč K., Laudová V., Harmatha J.: *Phytochemistry* 37, 707 (1994).
- Vokáč K., Buděšínský M., Harmatha J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 67, 124 (2002).
- Buděšínský M., Vokáč K., Harmatha J., Cvačka J.: *Steroids* 73, 502 (2008).
- Hunyadi A., Herke I., Lengyel K., Báthori M., Kele Z., Simon A., Tóth G., Szendrei K.: *Sci. Rep.* 6: 37322 (2016).
- Karlson P.: *Mode of Action of Ecdysones*, v knize: *Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophyly* (Burdette W. J., ed.), Springer, Berlin 1974.
- Nakagawa Y., Sonobe H., v knize: *Handbook of Hormones: Comparative Endocrinology for Basic and Clinical Research* (Takei Y., Ando H., Tsutsui K., ed.), str. 557. Elsevier, Oxford 2016.
- PathBank*, <https://pathbank.org/view/SMP0121061>, též <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/pathway/PathBank:SMP0121061>, staženo 27. 2. 2021.
- Fujimoto Y., Maeda I., Ohyama K., Hikiba J., Kataoka H.: *Phytochemistry* 111, 59 (2015).
- Dinan L., Harmatha J., Volodin V., Lafont R., v knize: *Ecdysone: Structures and Functions*, kap. 1, str. 3. Springer, Dordrecht 2009.
- Vokáč K., Buděšínský M., Harmatha J., Kohoutová J.: *Phytochemistry* 49, 2109 (1998).
- Takemoto T., Okuyama T., Arihara S., Hikino Y., Hikino H.: *Chem. Pharm. Bull.* 17, 1973 (1969).
- Cheng Y.-B., Lee J.-C., Lo I.-W., Chen S.-R., Hu H.-C., Wu Y.-H., Wu Y.-C., Chang F.-R.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26, 2344 (2016).
- Temirgazyev B. S. a 9 spoluautorů: *Steroids* 147, 37 (2019).
- Mamatkhanov A. U., Shamsutdinov M. R. I., Shakirov T. T.: *Khim. Priro. Soedin.* 1980, 528.
- Human Metabolome Database*; <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0030180>, staženo 27. 2. 2021.
- ACD/Labs: *Percepta*, Toronto, release 2020.2.0 (2021).
- Matsuda H., Kawaba K., Yamamoto Y.: *Nippon Yakurigaku Zasshi* 66, 551 (1970).
- Waller C. C., McLeod M. D.: *Drug Test. Anal.* 9, 1304 (2017).

47. Parr M. K., Botrè F., Naß A., Hengevoss J., Diel P., Wolber G.: *Biol. Sport* 32, 169 (2015).
48. Dinan L., Dioh W., Veillet S. Lafont R.: *Biomedicines* 9, 492 (2021).
49. <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search?query=2019-004602-94>, staženo 27. 2. 2021.
50. Hirunsai M., Yimlamai T. Suksamrarn A.: *In Vivo* 30, 869 (2016).
51. Kholodova I. D., Tugai V. A., Zimina V. P.: *Ukr. Biokhim. Zh.* 69, 3 (1997).
52. Prováděcí rozhodnutí komise C(2018)4175 (final) z 27. 6. 2018.
53. Puri P., Wuttke W., Seidlova-Wuttke D.: *Planta Medica* 78, 109 (2012).
54. Mhashilkar A. S., Vankayala S. L., Liu C., Kearns F., Mehrotra P., Tzertzinis G., Palli S. R., Woodcock H. L., Unnasch T. R.: *PLoS Neglected Trop. Dis.* 10, e0004772 (2016).
55. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03906201>, staženo 27. 2. 2021.
56. Dioh W. a 16 spoluautorů: *Trials* 22, 42 (2021).
57. Buniam J., Chukijrunroat N., Rattanavichit Y., Surapongchai J., Weerachayaphorn J., Bupha-Intr T., Vitoon S.: *BMC Complementary Med. Ther.* 20, 140 (2020).
58. Zhang, L., Xia X., Ma J., Zhang D., Liu Q., Hua C., Wang X., Zhang Q., Liu R.: *Zhongguo Linchuang Yanjiu* 28, 981 (2015).
59. Kuz'mitskii B. B., Golubeva M. B., Konoplia N. A., Kovganko N. V., Akhrem A. A.: *Farmakologiya i Toksikologiya* 53, 20 (1990).
60. Osipova S. O., Islamova Z. I., Syrov V. N., Badalova N. S., Khushbaktova Z. A.: *Meditsinskaia Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni* 2002, 29.
61. Makhmudova L. B.: *Meditsinskaia Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni* 2012, 45.
62. Kurmukov A. G., Ermishina O. A.: *Farmakologiya i Toksikologiya* 54, 27 (1991).
63. Harmatha J., Vokáč K., Kmoníčková E., Zidek Z.: *Steroids* 73, 466 (2008).
64. Chiang H. C., Wang J. J., Wu R. T.: *Anticancer Res.* 12, 1475 (1992).
65. Shakhmurova G. A., Syrov V. N., Khushbaktova Z. A.: *Pharm. Chem. J.* 44, 7 (2010).
66. Mirzaev Y. R., Syrov V. N., Krushev S. A., Iskanderova S. D.: *Eksp. Klin. Farmakol.* 63, 35 (2000).
67. Bernard B., Gautier B. (L'Oreal SA): *US20050137175A1* (2003).
68. Ramazanov N. S., Bobayev I. D., Yusupova U., Aliyeva N., Egamova F. R., Yuldasheva N. K., Syrov V. N.: *Nat. Prod. Res.* 31, 593 (2017).
69. Lesma G., Luraghi A., Rainoldi G., Mattiuzzo E., Bortolozzi R., Viola G., Silvani A.: *Synthesis (Stuttgart)* 48, 3907 (2016).
70. Bortolozzi R., Luraghi A., Mattiuzzo E., Sacchetti A., Silvani A., Viola G.: *J. Nat. Prod.* 83, 2434 (2020).
71. Martins A., Csabi J., Balazs A., Kitka D., Amaral L., Molnar J., Simon A., Toth G., Hunyadi A.: *Molecules* 18, 15255 (2013).
72. Martins A., Toth N., Vanyolos A., Beni Z., Zupko I., Molnar J., Bathori M., Hunyadi A.: *J. Med. Chem.* 55, 5034 (2012).
73. Ling T. T., Lang W. H., Maier J., Centurion M. Q., Rivas F.: *Molecules* 24, 2012 (2019).
74. Gaube F., Wölfl S., Pusch L., Werner U., Kroll T. C., Schrenk D., Hartmann R. W., Hamburger M.: *Planta Med.* 74, 1701 (2008).
75. Skała E., Synowiec E., Kowalczyk T., Sliwinski T., Sitarek P.: *Oxid. Med. Cell Longevity* 2018, 8198652.
76. Yokosuka A., Inomata M., Yoshizawa Y., Iguchi T., Mimaki Y.: *J. Nat. Med.* 75, 393 (2021).
77. Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 363 (2021).
78. Bejček J., Spiwok W., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
79. Sláma K.: *Eur. J. Entomol.* 116, 16 (2019).
80. Windaus A., Dithmar K., Fernholz E.: *Liebigs Ann.* 493, 259 (1932).
81. Tan E. S., Tham F. S., Okamura W. H.: *Chem. Commun.* 2000, 2345.
82. Harmatha J., Buděšínský M., Vokáč K., Pavlík M., Grüner K., Laudová V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 72, 334 (2007).
83. Kuncirova V., Ponist S., Mihalova D., Drafi F., Nosal R., Acquaviva A., Gardi C., Harmatha J., Hradkova I., Bauerova K.: *Fundam. Clin. Pharmacol.* 28, 616 (2014).
84. Nosal R., Perečko T., Jančinová V., Drábíková K., Harmatha J., K Svitekova K.: *Neuroendocrinol. Lett.* 31, Suppl. 2, 69 (2010).
85. Yamamotová A., Pometlová M., Vaculín Š., Harmatha J., Rokyta R.: *Psychiatrie* 7, Suppl 3, 55 (2003).
86. Yamamotová A., Pometlová M., Harmatha J., Rašková H., Rokyta R.: *J. Ethnopharmacol.* 112, 368 (2007).
87. Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 458 (2021).
88. Přerovská T., Benešová E., Lipovová P.: *Chem. Listy* 115, 171 (2021).
89. Kaczorová D., Béres T., Zeljković S. C., Bjelková M., Kuchař M., Tarkowski A. P.: *Chem. Listy* 114, 277 (2020).
90. Rádl S.: *Chem. Listy* 115, 246 (2021).

M. Jurášek^a, L. Opletal^b, J. Harmatha^c, K. Sláma^d, and P. Drašar^a (^a Department of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, ^b Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University Prague, ^c Institute of Organic Chemistry and Biochemistry AS CR, Prague, ^d Laboratory of Insect Physiology, Prague): **About the Miraculous Power of the "Maral Roots"**

Rhaponticum carthamoides, maral root, is being used, namely in Orient, for centuries. The focus of interest of medicinal chemists has recently been pointed to its chemical components, namely 20-hydroxyecdysone, a herbal drug with very low toxicity. It is registered in the EU to

cure, e.g., Duchenne muscular dystrophy. Moreover, being recognised as an adaptogen, it has been in use to cure pre-diabetes and can be classified as a natural substance, for which intensive research into cancer and leukaemia treatment is running, in some cases together with bufadienolides. Ecdysteroids also have the ability to affect drug resistance in the treatment of tumours. The paper brings the digest of the most interesting information, mainly from the human health research.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: maral root, Lou Lu, *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin, oriental medicine, folk medicine, substances increasing proteosynthesis, 20-hydroxyecdysone

NEUROHYPOFYZÁRNÍ PEPTIDY V LÉKAŘSTVÍ Z PRAŽSKÝCH A ŠVÉDSKÝCH LABORATOŘÍ. ČÁST I: HISTORIE VÝZKUMU A POČÁTKY PRODUKCE LÉKOVÝCH FOREM

VLADIMÍR PLISKA^a, ANTONÍN PAŘÍZEK^b
a MARTIN FLEGEL^{c†*}

^a Department of Biology, Eidgenössische Technische Hochschule (ETH), Wolfgang-Pauli-Strasse 27, CH-8093 Zürich, ^b Gynékológicko-porodnická klinika 1. lékařské fakulty UK a VFN v Praze, Perinatologické centrum, Apolinářská 18, 128 51 Praha 2, ^c Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
vladimir.pliska@biol.ethz.ch; parizek@porodnice.cz

Došlo 21.9.21, přijato 23.10.21.

Klíčová slova: neurohypofyzární hormony, oxytocin, vasopresin, deamino-D-arginin vasopresin, DDAVP, Glypresin, Terlipresin, Carbetocin, Ferring company, peptidová léčiva

• <https://doi.org/10.54779/chl20220020>

Úvod

V padesátých až sedmdesátých letech minulého století byly hormonální peptidy z neurohypofýzy, vasopresin a oxytocin, jedním z nejvýznamnějších výzkumných programů Ústavu organické chemie a biochemie Československé akademie věd (dále také ÚOCHB) a předmětem zájmů velmi podstatné části vědecké, klinické a farmaceutické obce v tehdejším Československu. Nově vyvinuté chemické, biofyzikální a farmakologické postupy umožnily v té době četným laboratorům v řadě dalších zemí zabývat se otázkou závislosti jejich biologických aktivit na struktuře jejich molekul. Pražský příspěvek k tomuto výzkumu je významně spojen s ÚOCHB a především se jmény Františka Šorma a Josefa Rudingera¹.

Historická poznámka: Neurohypofýza, oxytocin a vasopresin: první polovina 20. století

Klinický zájem o neurohypofyzární peptidy je pozoruhodně starého data, pozornost kliniků upoutaly již počátkem 20. století. Až do padesátých let byly ovšem, stejně jako jiné hormonální přípravky, k dispozici pouze ve formě extraktů z biologického materiálu, převážně z vepřových a dobytčích hypofýz získávaných z jatečních zvířat.

Uterotonické účinky hypofyzárních extraktů popsaly ve farmakologické studii poprvé v roce 1909 H. H. Dale². Jejich použití v porodnictví následovalo brzy po publikaci jeho sdělení v *Biochemical Journal*, zpočátku pro léčbu porodního krvácení v případech hypotonie/atonie myometria dělohy nebo po císařském řezu^{3,4}, později k posílení retrakce dělohy pro porod placenty⁵. Jako léčivé formy, zpravidla parenterálně aplikované, přicházely v úvahu mírně kyselé vodní extrakty hovězí neurohypofýzy, produkováné farmaceutickými firmami pod různými firemními názvy – Pitocin, Pituitrin (Parke Davis & Co), Pituglandel (Hoffmann-La Roche), Infundibulin. Jejich standardizaci definovala Farmakopéa Spojených států (USP): připouštěla 16 % celkového znečištění a preparáty měly obsahovat 10 mezinárodních jednotek oxytocinu^a a malé procento konzervačních látek (0,5 % chlorbutanolu).

Rovněž v nefrologii a angiologii našly pituitární extrakty od druhého desetiletí 20. století občasné použití. Souvislost neurohypofýzy s žíznivkou (*diabetes insipidus*) byla známa z klinických zkušeností⁶; o léčbě s ní spojené polyurie hypofyzárními extrakty referovali poprvé v roce 1913^b F. Farini⁷ a R. von den Velden⁸. Pozdější aplikace těchto extraktů pro hemostázu v gastroenterologii při variceálním krvácení, v protišokové terapii a při lokální anestezii cituje v přehledu K. Saameli⁹.

Preparáty připravované extrakcí zvířecích neurohypofýz obsahovaly ovšem kromě peptidových hormonů i řadu dalších komponent – potenciálních alergenů či pyrogenních látek – a je s podivem, že při parenterálním podávání jsou nežádoucí účinky v literatuře zmiňovány jen zřídka (viz např.⁸). Přesto se tyto formy peptidů jako úspěšná léčiva udržely až do poloviny padesátých let^c.

* † 15.7.2021. Nekrolog dr. Flegela viz Drašar P.: Chem. Listy 115, 575 (2021).

^a Mezinárodní jednotka (IU) oxytocinu je nově definována jako uterotonická aktivita 1,68 µg mezinárodního standardu NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control); viz <https://www.nibsc.org/documents/ifu/76-575.pdf>. V přepočtu: 1 mg (nového) mezinárodního standardu (ca. 10⁻⁶ mol oxytocinu) = 595 IU. Starý standard (lyofilizované hovězí neurohypofýzy) uváděl 500 IU.

^b U klinických případů popsanych v tehdejších sděleních šlo velmi pravděpodobně o neurogenní (centrální) formu žíznivky (*d.i. centralis*). U její renální formy (*d.i. renalis*), nezávislé na plasmatické koncentraci vasopresinu, jde zpravidla o mutaci genu vasopresinového receptoru V2R či jeho signální dráhy.

Oxytocin, vasopressin a jejich analoga: výzkum na ÚOCHB

Zásadní zlom v dostupnosti čistých preparátů peptidových léčiv nastal po publikaci první syntézy oxytocinu^{10,11} a vasopressinu¹² v laboratoři Vincenta du Vigneauda na Cornellově Univerzitě v New Yorku. Téměř současně navrhli alternativní postupy syntézy oxytocinu chemici basilejské firmy Sandoz AG¹³ a pražská laboratoř Josefa Rudingera¹⁴ na ÚOCHB ČSAV; diagramy stávajících syntéz shrnul koncem 60. let Boissonas s Guttmanem¹⁵. Koncem 50. let byly tedy k dispozici jen „spolehlivé“ metody peptidové syntézy „v roztoku“^d. Zdokonaleny a přizpůsobeny k daným účelům byly též farmakologické testy a fyziologické experimentální postupy. Tím byla dokončena první etapa jejich výzkumu, jejímž cílem bylo především objasnit závislost mezi strukturou peptidového řetězce a spektrem biologických aktivit hormonů, a to i z fylogenetického hlediska (v 60. letech bylo již známo, že v jednotlivých živočišných třídách se vyskytují analogy hormonů původně identifikovaných u savců). Výsledkem byly strukturně modifikované neurohypofyzární hormony s pozoruhodnými farmakologickými charakteristikami a další možnost změn a kombinace aminokyselin v jednotlivých polohách peptidu. V průběhu první poloviny 60. let vyvstala přirozeně otázka, které z těchto látek mohou být klinicky použitelné; řada takto získaných analogů tuto možnost naznačovala.

Klinické užití nového léčiva je ovšem vždy spojeno s otázkou jeho syntézy ve velkém měřítku (upscaling); upscaling je kritickým limitem produkce jejich lékových forem. Postup laboratorních syntéz používaný v 50. a 60. letech byl pro výrobní techniku náročný a nadto neekonomický: na základě údajů ve starší literatuře^{10,14} jsou výtežky produktů syntézy oxytocinu v jednotlivých stupních 30–85 %; ztráty vztažené na výchozí produkty mohou být při devítistupňové syntéze až 92–99,8 %. Dnes používaná syntéza kratších peptidů v pevné fázi na různých nosičích v kombinaci s jejich čištěním vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) výrobu ovšem zrychlila a zjednodušila.

Nicméně, syntetický oxytocin byl již ke konci 50. let distribuován několika evropskými firmami. Šlo o produkt vyráběný v rozšířeném laboratorním měřítku, často patrně získávaný ve spolupráci firem s výzkumnými laboratořemi: Oxytocin-Spofa (Praha), Syntocinon Sandoz (Basel) – později Syntocinon Novartis, Oxytocin Ferring (Malmö, Kiel) – později Oxytocin Ferring-Léčiva (Praha), na počátku 60. let i firmou Sanabo GmbH Wien^e.

Ještě méně příznivá byla tato situace pro výrobu analogů oxytocinu, a to i přes to, že některé z nich byly pokládány za velmi nadějně pro klinické užití. Jejich reálnou šanci bylo ovšem těžké posoudit. Farmakologické testy na izolovaných tkáních i na zvířatech *in vivo* jsou zpravidla závislé na extrinzických (iontové složení okolního média ve farmakologickém textu, pH, atd.) a intrinzických faktorech testovacího systému (hormonální stav příslušné tkáně, atd.) a jejich účinek v klinické praxi nelze spolehlivě odhadnout. Rozhodující jsou proto pouze klinické testy. Uvedení nové léčivé látky a její lékové formy je velmi dlouhý a komplikovaný proces. Uspěť mohou jen společnosti pracující v systému „správné výrobní praxe“ (SVP).

Před koncem 20. století byly farmaceutické firmy pracující v systému SVP v Československu ojedinělé. Tím lze také vysvětlit, že se zde vyrábělo v gramovém množství pouze jediné nové peptidové uterotonikum, Methyloxycocin Spofa, ačkoliv pražské laboratoře, zvláště na Ústavu organické chemie a biochemie ČSAV, patřily v designu a syntéze peptidů ke světové špičce. Přitom šlo o analog, který v gynekologické a porodnické praxi nedosáhl velkého rozšíření. Farmakologické studie už tehdy dokládaly, že chránění hydroxyly methylovou skupinou na aromatickém jádru tyrosinu v poloze 2 vede ke snížení uterotonické aktivity při zachování jistého stupně afinity k oxytocinovému receptoru, tedy k posunu od agonismu k antagonismu^{16,17}. Obecně jsou starší údaje o aktivitách 2-*O*-methyltyrosin-oxytocinu spíše nejasné; přesnější data v oblasti agonisticky působícího peptidu uvádějí 0,05–0,1 % aktivity oxytocinu, nulovou (pouze antagonistickou) aktivitu vasopressorickou u krysy a 1,8 % u kohouta. Publikovaná data o klinických vlastnostech (Spofa) nejsou v tomto směru příliš přesvědčivá¹⁸. Z klinického hlediska zajíma-

^c Podobná situace přicházela v první polovině 20. století u většiny, ne-li u všech, hormonálních preparátů izolovaných běžnými biochemickými technikami ze živočišných tkání. Riziko, že dojde k nebezpečným následkům, bylo značné a spojeno s nebezpečím, že vývoj účinného léku bude na léta pozdržen. Snad nejdramatičtější situace vyvstala v případě inzulínu: jako prvnímu (14letému) pacientovi s infaustní prognózou diabetu (typy I, II nebyly tehdy ještě identifikovány) byl v kritické situaci v prosinci 1921 na jedné z klinik Toronto General Hospital intravenózně aplikován ještě nedokonale vyčištěný extrakt pankreatu připravený F. Bantigem a C. Bestem. Ošetřující lékař, Dr. W. Campbell, ho označil jako „a thick brown muck“. Nicméně, a naštěstí, hypoglykemický účinek byl neslýchaný a nepředpokládaný, žádná vážnější nežádoucí reakce nenastala, a proto další výzkum inzulínu nebyl blokován (viz Michael Bliss: „The Discovery of Insulin“, The University of Chicago Press, 1982, str. 112).

^d Pozoruhodné je, že oxytocin, vyráběný podle postupu z ÚOCHB v n.p. Léčiva – SPOFA, obsahující stopy diethyletheru po extrakci zbytků chránících skupin, se užíval v porodnictví ještě v 70. letech minulého století.

^e Peptidlaboratorium der Firma Sanabo Wien XII. Údaje o produkci v této firmě chybí. Ve firmě byl činný spolupracovník profesora Hanse Tuppyho, Hans Nesvadba, původně Organisch-chemischen Institut der Universität Wien. Firmu převzala podle ústního sdělení jednomu z autorů tohoto textu firma Sandoz AG (V. P., sdělení B. Berde, Sandoz AG, Basel, 1968).

vý, i když fyziologicky ne zcela podložený, je prokázán pokles laktacidozy u dlouhotrvajících porodů. U porodů, u nichž se děložní kontrakce zesilovaly oxytocinem, pokles laktacidozy pozorován nebyl: autoři z Ústavu pro matku a dítě v Praze-Podolí¹⁹ uvádějí hladinu laktátů při náhradě oxytocinu methyloxycocinem zhruba 20násobně nižší. Přesto se tento lék v zahraničí nerozšířil a měl význam spíše lokální.

Podstatně zajímavější pro klinickou praxi byla analoga vasopressinu (především 8-lysín-vasopressinu) syntetizovaných v laboratořích ÚOCHB. Šlo jednak o analoga hormonogonového typu^{20,21} s prodlouženým účinkem, z nichž [(Gly)₃-Cys¹,Lys⁸]vasopressin byl později vyráběn ve Švédsku jako Glypressin Ferring® (Terlipressin INN) a v Německé spolkové republice jako Haemopressin firmami Curatis Pharma GmbH a Meduna Arzneimittel GmbH. Jako velmi slibný se jevil analog vasopressinu s výrazným posunem ve farmakologickém spektru směrem k antidiuretické aktivitě 1-deamino-8-D-argininvasopressin (Desmopressin INN, dDAVP)^{22–24}. V prvním případě šlo o peptidy s použitím v případech, kde hrozil kardiiovaskulární kolaps: traumatický šok či krvácení z ezofageálních varixů. Literatura přináší řadu zpráv o jejich terapeutickém použití, v konkurenci s dalšími kardiiovaskulárními léky nebyly však na prvním místě. Pokud jde o dDAVP, byl hned po prvních klinických zkouškách rozpoznán jako potenciální peptid pro substituční terapii *diabetes insipidus* (viz^b). V menším množství, kolem 30 g za rok, byl dDAVP nejprve vyráběn v ÚOCHB, později po vybudování nových peptidových laboratoří v roce 1976 ve státním podniku Léčiva-SPOFA. Tehdejší ředitel ÚOCHB a předseda akademie věd František Šorm se snažil o jeho rychlé zavedení do výroby a tím i jeho rozšíření v klinické praxi. V Československu však nebyl příliš úspěšný, především v důsledku strnulé hospodářské a legislativní politiky.

Počátky spolupráce ÚOCHB s firmou Ferring Läkemedel AB Malmö

K prvnímu kontaktu ÚOCHB se zástupci firmy Ferring Läkemedel AB Malmö došlo na podzim roku 1967 na sympóziu „Pharmacology of Hormonal Polypeptides“

v Milanu prostřednictvím dánského neurofyziologa Nielse A. Thorna, profesora fyziologie na kodaňské univerzitě^f. Sympóziu bylo zaměřeno na hormonální polypeptidy a proteiny^g, z ÚOCHB se ho na pozvání účastnili s přednáškami Josef Rudinger, Karel Jošt a Vladimír Plíška. (Jejich souhrnné sdělení bylo publikováno v *Advances of Experimental Medicine and Biology*²⁵). Niels Thorn seznámil V. P. s tehdejšími vedoucími lékařské sekce firmy Ferring AB, Janem Mulderem, který rovněž patřil mezi účastníky sympózia. Účelem seznámení ovšem nebyla budoucí spolupráce firmy s ÚOCHB (a tím méně pozdější produkce dDAVP jako léčiva), nýbrž již dříve plánovaný společný projekt Thorna a V. P., týkající se tehdy ještě neobjasněného transportu neurohypofyzárních hormonů z nervových zakončení v neurohypofýze do periferní cirkulace^{26,27}. V laboratořích firmy Ferring syntetizovali krátce předtím Carlsson a Sjöholm^h oxytocin a 8-lysín-vasopressin specificky tritiovány na tyrosinu v poloze 2 (cit.^{28,29}). Oproti nespecificky tritiováným produktům se předpokládala podstatně omezená izotopová výměna s okolními molekulami vody; to se ostatně potvrdilo v dlouhodobé studii stability tritiování vasopressinu³⁰. Tritiování vasopressinu mohl tedy být s výhodou použit v uvedeném projektu a Jan Mulder dal nejen najevo svůj souhlas, ale zaručil i svoji plnou podporu. Část kodaňského projektu se tím přesunula do Ferringovských laboratoří v Limhamnu u Malmö, na druhém břehu Öresundu, kde bylo tehdy hlavní sídlo firmy. Vedle již jmenovaného Jana Muldera se na projektu podíleli především vedoucí chemických laboratoří Lars Aake Ingemar Carlsson a jeho asistent Jan-Åke Sköldböck, kteří syntetizovali a čistili oxytocin pro výrobu lékových forem, farmakolog Per Melin, zabývající se neurohypofyzárními hormony (jeho jméno je úzce spojeno s pozdějšími úspěšnými léky – Atosiban, Carbetocin), dále ekonomický ředitel Ferringa Sam Matarasso a především zakladatel firmy Ferring, její prezident a v té době ještě hlavní akcionář Frederick Paulsen a jeho manželka Eva Paulsen. V diskusích s V. P. byl také zmíněn nově syntetizovaný analog dDAVP z laboratoře Milana Zaorala na ÚOCHB a jeho pozoruhodné spektrum aktivit se silným posunem k aktivitě antidiuretické a s téměř úplnou absencí vazokonstrikční aktivity. Přes poměrně nízkou prevalenci centrální formy *diabetes insipidus* se dDAVP jevil jako naprosto preferenční prostředek

^f Niels Anker Thorn (1924–2014), Institute of Medical Physiology C, Panum Institute, University of Copenhagen, Denmark.

^g International Symposium on the Pharmacology of Hormonal Polypeptides, held in Milan, Italy, September 14–16, 1967. (Publikace: *Proceedings of an International Symposium on the Pharmacology of Hormonal Polypeptides*, held in Milan, Italy, September 14–16, 1967. Editors: Nathan Back, Luciano Martini, Rodolfo Paoletti. Plenum Press, 1968).

^h Lars Aake Ingemar Carlsson byl vedoucí peptidový chemik ve firemních laboratořích firmy FERRING, Ingvar Gösta Holger Sjöholm, později profesor na Uppsalské univerzitě, pracoval v té době na Královském farmaceutickém institutu (Kungliga Farmaceutiska Institutet) ve Stockholmu. K syntéze použili v prvním stupni jimi syntetizovaný L-3 iodotyrosin-lysín-vasopressin, ve kterém v alkalickém prostředí substituovali jod plynným tritiem. Získali tak tritiování peptid s tehdy úctyhodnou specifickou radioaktivitou 2–3 Ci/mmol ($7,4 \cdot 10^{10}$ – $1,1 \cdot 10^{11}$ Bq/mmol) a vyhnuli se tehdy běžně používané přímé expozici závěrečného produktu – tedy oxytocinu či 8-lysín-vasopressinu – tritiem (Wilzbachova metoda), vedoucí k nespecifické výměně různých vodíkových atomů v molekulách obou peptidů tritiem.

pro substituční terapii; dosud používaný Pitressin různých výrobců vykazoval nepříjemné až nebezpečné vedlejší účinky spojené s vazokonstrikční aktivitou. Analog vzbudil pochopitelný zájem zvláště u Jana Muldera a u Frederika Paulseny. O tomto zájmu referoval V. P. po návratu řediteli ÚOCHB Františku Šormovi. Zdá se, že ten mezitím učinil další pokus prosadit výrobu dDAVP v Československu; po jeho nezdaru požádal Šorm o zprostředkování kontaktu s Ferringem. Jan Mulder přiletěl do Prahy k předběžnému jednání o podmínkách spolupráce, resp. pozdější licence, což bylo v této fázi počátkem roku 1969 během několika hodin dohodnuto. První dohoda byla písemně dokumentována a podepsána F. Šormem, J. Mulderem a V. P. a předložena právnímu oddělení Akademie ke schváleníⁱ. Jeho platnost byla potvrzena ještě v průběhu odpoledne a Jan Mulder odletěl do Švédska s předběžnou písemnou dohodou, která přinesla firmě Ferring neočekávaný úspěch a zisk, chemikům obou stran prospěšné kontakty a také finanční výhody pro ÚOCHB.

Několik poznámek k firmě FERING v době počátku spolupráce s ÚOCHB

Na počátku 70. let, tedy v době počátku kontaktů mezi oběma institucemi, byla firma Ferring AB spíše menším farmaceutickým podnikem, od roku 1954 v Malmö-Limhamnu^j. Ještě v roce, kdy započala spolupráce s ÚOCHB, byl veškerý provoz firmy soustředěn ve vile blízko pobřeží Öresundu; k rozšíření o další nemovitosti v okolí a k rozsáhlé přístavbě došlo po tomto datu. V jejím čele stál již zmíněný zakladatel firmy Dr. med. Frederik Paulsen (1909–1997; původně Friedrich, narozen v Dagebüll, Nordfriesland, Schleswig-Holstein)³¹ (obr. 1). Byla to po všech stránkách vzácná a vysoce vzdělaná osobnost. Jeho zájmy zahrnovaly nejen jeho původní vědecký obor – endokrinní farmakologii; stejně intenzivně se zabýval historií a jazykem svého rodného kraje, Severofrízských ostrovů (od jména ostrova *Faroe* a jeho obyvatel *ferringů* je odvozeno jméno společnost Ferring), světovými dějinami, literaturou a lingvistikou. Současný politický vývoj a sociální otázky s ním spojené sledoval očima liberálně progresivního pozorovatele. Samozřejmě měl jako ředitel firmy odpovědnost za její ekonomický prospěch, avšak vědecká stránka byla jeho přednostním zájmem.

Z toho hlediska také pohlížel na spolupráci s českou stranou, i když se aktivně na jednáních s ÚOCHB nepodílel.

Prvním lékařským ředitelem výzkumu byl až do své tragické smrti (30. dubna 1976) Holanďan Dr. med. Jan Louis Mulder, který, jak již bylo zmíněno, navázal ze švédské strany spolupráci s ÚOCHB. Děk svým organizačním schopnostem a kontaktům na evropských klinikách dosáhl rychle povolení ke klinickým zkouškám. To, že dDAVP byl včas a široce dostupný v lékařské praxi byla především jeho zásluha. Jan Mulder podnikl rovněž koncem roku 1969 první kroky ke klinickým testům jednoho z prvních potentních oxytocinových antagonistů z laboratorii ÚOCHB, 1-*N*^a-acetylcystein-2-*O*-methyltyrosin-oxytocinu^{32,33} ve Švédsku. Pozdější úspěšný rozvoj v aplikaci tokolytický působících oxytocinových analogů (atosiban) nastal až po jeho smrti. Ve funkci ředitele jej vystřídal Hans Vilhardt (1940–2015) z Ústavu lékařské fyziologie na univerzitě v Kodani (pozdější profesor tamtéž)^k. Po něm následoval Jan Ivan Thorell (*1934), profesor klinické chemie na univerzitě v Lundu; odešel později do vedoucí funkce ve výzkumu Pharmacia Diagnostics AB (Uppsala). Poslední z této řady, dosazený ještě Frederikem Paulsenem sen., byl Iain C. A. F. Robinson (*1949) z National Institute for Medical Research, Mill Hill, London.

Vedoucí pozice ve firemním výzkumu zaujímaly dvě osobnosti, peptidový chemik Lars Aake Ingemar Carlsson a farmakolog Per Melin^l. První z nich byl zde již několikrát zmíněn jako významný syntetik, který se o svou publicitu mezi evropskými kolegy málo zajímal, publikoval spíše jako spolaautor; jeho doménou byly pečlivé náročné syntézy v laboratorii, nevyhýbající se ani operacím s radioizotopovým značením peptidů. Uvažoval je s ohledem na provozní produkci peptidových léčivých látek v širším smyslu. Tyto vlastnosti oceňovala řada mladých peptidových chemiků a v Malmö tak vznikla inovativní skupina peptidových syntetiků. Mezi jinými byl polský chemik Jerzy Trojnar (*1943), který později Carlssonovu funkci převzal (v letech 2003–2008 byl pak činný v Ferring Research Institute Ltd., San Diego, CA^m jako jeden z ředitelů).

Per Melin stál na počátku vývoje farmakologického testování a výzkumu ve firmě Ferring. Jeho publikační aktivita je rozsáhlá, byl vítaným partnerem v četných výzkumných a klinických projektech. Má velmi významný podíl na zavedení tokolytika atosibanu do klinické praxe

ⁱ Zmíněný dokument byl jen předběžnou verzí právnicky doložené pozdější licenční dohody a není dnes v archivech dostupný (či snad není na příslušných místech zájem zveřejnit průběh těchto jednání).

^j V roce 1956 byla otevřena pobočka FERRING GmbH v Kielu, vedená bratrem Frederika, Dr. Otto Paulsenem. Byla od počátku zaměřena na produkci léčiv a na jejich odbyt, zvláště na německém trhu.

^k Sdělení na okraj (V. P.): po návratu Hanse Vilhardta na kodaňskou univerzitu uvažoval F. Paulsen sen. o pozvání Tomislava Bartha (1938–2007) z ÚOCHB do této funkce. V té době (počátkem 80. let) existovaly ale oprávněné pochyby, že by kdokoliv z tehdejší ČSSR (a i z ostatních zemí pod sovětským vlivem) mohl takovou funkci převzít. Dokládá to nicméně tehdejší úzké vztahy mezi společnostmi FERRING a ÚOCHB.

^l V současnosti nebylo autorům možné jejich životopisné údaje zjistit. Lars Carlsson zemřel – snad koncem 90. let – na následky diabetu, Per Melin odešel po roce 1999 do penze a přesídlil do Velké Británie.

^m Ústav zanikl v roce 2016.

Eva Paulsen, Alkersum (Föhr),
září 1991 (Foto V.P.)Frederik Paulsen (& V.P.)
Alkersum (Föhr), září 1991Hans Vilhardt (& V.P.)
Kopenhagen, září 1984Niels A. Thorn (& V.P.), severní
Zeeland (Dánsko), květen 1968Per Melin (& V.P.), Edinburgh,
září 1999 (Foto Maurice Manning)Tom Barth (& V.P.), Edinburgh,
září 1999 (Foto Maurice Manning)

Obr. 1. Autorům dostupné fotografie osob spojených s projektem spolupráce ÚOCHB – Ferring Läkemedel AB, Malmö

a s jeho použitím jako inhibitoru oxytocinového receptoru ve farmakologických a fyziologických studiích^{34,35}

Výzkum neurohypofyzárních peptidů v Československu po roce 1968

Rok 1968 představoval v Československu mezník z mnoha historických hledisek. Byl kritický také z hlediska

výzkumu a vývoje peptidů v Ústavu organické chemie a biochemie ČSAV. Vliv jeho zakladatele a ředitele Františka Šorma byl, pro jeho postoje a názory na okupaci Československa armádami zemí Varšavské smlouvy, potlačován a postupně slábl. Přes trvalou vědeckou kvalitu ústavu a jeho příslušníků byly podmínky výzkumu v důsledku politicky motivovaného omezení kontaktů se světovou vědeckou komunitou, nedostatku importovaných chemikálií a především snahami o byrokratické řízení výzkumu

velice ztíženy.

Laboratoř Josefa Rudingera (1924–1975) byla po jeho odchodu v roce 1968 do Švýcarska rozdělena na dvě části. Jednu z nich vedl Karel Bláha, jehož vědecká aktivita ve spolupráci s Ivo Fričem byla zaměřena spíše na problémy fyzikálně chemických a spektrálně chiroptických vlastností peptidů. Ve výzkumu neurohypofyzárních hormonů a hlavně pak analogů oxytocinu pak pokračoval zejména Karel Jošt a Karel Poduška, spolu s Vladimírem Gutem. Biochemické a biologické vlastnosti látek pak nadále studoval Tomislav Barth. Ve Výzkumném ústavu farmacie a biochemie v Praze (VÚFB) pak pokračoval ve výzkumu peptidů vedle Ivana Krejčího také žák Josefa Rudingera Evžen Kasafírek (tragicky zahynul v květnu 2001 (cit. ³⁶⁾ⁿ).

Druhou skupinu peptidů vedl Milan Zaoral. Předmětem jeho zájmu byly zejména vasopressinová analoga, především již před rokem 1968 podrobně zkoumaný vliv modifikace struktury vasopressinu v poloze 8 (enantiomerní záměna L/D argininového postranního řetězce) v této pozici. Jak zmíněno výše, analogy 1-deamino-8-D-arginin-vasopressin (dDAVP, Desmopressin) a 1-triglycyl-8-lysin-vasopressin (Terlipressin) byly pak prodány v licenci firmě Ferring AB, která tak získala právo vyrábět tyto látky pro západoevropské státy a pro USA.

Produkce peptidových léčiv v Československu v 70. a 80. letech

V Československu byly tradičně peptidy vyráběny laboratorně v nepříliš velkých (gramových) množstvích v národním podniku (dále také n.p.) Léčiva v rámci skupiny SPOFA (zkratka pro Spojené farmaceutické závody). Vedení SPOFA a Léčiv sice spolupracovalo již od padesátých let s ÚOCHB, peptidy však představovaly z výrobního a ekonomického hlediska jen nepatrný objem a malý zisk. Tomu odpovídal i malý zájem českého farmaceutického průmyslu o tento druh kvalifikované chemie. Po prodeji licence firmě Ferring zájem o peptidovou výrobu v n.p. Léčiva poněkud vzrostl a v důsledku toho byly laboratoře peptidů v závodě Léčiv v pražských Komořanech postupně rozšířeny a rekonstruovány (nové oddělení peptidů v Léčivech bylo však otevřeno až v lednu 1976). Analogy neurohypofyzárních hormonů, které již v relativně velkém objemu licenčně vyráběl Ferring, byly v Léčivech v podstatně menším objemu vyráběny pro socialistické státy východní Evropy a Sovětského svazu. Zisk z výroby peptidů byl však v celkovém objemu výroby v n.p. Léčiva stále velmi malý.

V poloprovozním oddělení ÚOCHB byly některé peptidy, schválené jako léčivé látky, syntetizovány pro n.p. Léčiva. Je nutno zmínit, že v sedmdesátých letech nebyl ještě ani ve výrobních farmaceutických provozech zaveden systém SVP (viz výše). Přiměřeně, avšak z hlediska SVP stále nedostatečně vybavený poloprovoz ÚOCHB, mohl tak být ještě využit i pro výrobu léčivých přípravků.

Zejména čištění peptidů představovalo v n.p. Léčiva velký problém. První šarže léčivé látky desmopressinu byly proto vyráběny v poloprovozu ÚOCHB a čištěny přímo v laboratoři Milana Zaorala. 20–30 g desmopressinu bylo pak dodáváno pro výrobu lékové formy desmopressinu pod názvem Adiuretin SD (nosních kapek) v měcholupských Léčivech.

Analog oxytocinu 2-O-methyltyrosin-oxytocin (methyl-oxytocin) byl v oddělení peptidů ve skupině Karla Bláhy čištěn jen v malém množství (kolem 5 g) metodou protiproudého vytřepávání, zavedenou v roce 1944 L. C. Craigem³⁷. Surový methyloxytocin byl vyráběn přímo v Léčivech v Praze Komořanech postupem vyvinutým v ÚOCHB. ÚOCHB tak pomáhal při výrobě peptidů až téměř do poloviny osmdesátých let minulého století.

Pozdější vývoj

Vztahy mezi výzkumníky pražského okruhu a laboratořemi Ferring AB v Malmö byly od konce 60. do poloviny 70. let velmi produktivní a vedly k vývoji terapeuticky zajímavých analogů neurohypofyzárních peptidů. ÚOCHB se po uzavření zmíněné dohody stal pro švédskou firmu a pro její vedení součástí vědeckého zázemí, ke kterému se vedle již tradičních skandinávských univerzitních kontaktů (Uppsala, Lund), často vlivem pražských peptidových výzkumníků, připojovali vědci-peptidáři z dalších zemí. Ze švédské strany přišly naproti tomu impulsy, které v pozdějších šedesátých letech iniciovaly zahájení modernějšího přístupu k peptidové výrobě v Praze.

V té době ovšem autokratická politika v Československu vědeckému rozvoji – pokud nevedl ke krátkodobým ekonomickým přínosům – nepřála a styk mezi vědeckými pracovníky ze západních zemí a z evropských zemí pod sovětským vlivem administrativními a finančními opatřeními ztěžovala, či spíše znemožňovala. Po roce 1969 vedení ÚOCHB ztrácelo možnosti volné spolupráce se západním zahraničím; osobní styky s kolegy z Ferringovských laboratoří byly koncem sedmého desetiletí velmi omezené. Za takových okolností se výzkumné a i výrobní aktivity firmy Ferring postupně soustředily na spolupráci s dalšími evropskými a zámořskými laboratořemi.

V této situaci vznikla z iniciativy Frederika Paulsena v lednu 1981 menší mezinárodní skupina externích vědeckých pracovníků s názvem „Ferring Colloquium“ se záměrem sledovat vývoj v oboru peptidových farmaceutik a tak podporovat rozvíjející se výzkumnou komunitu v Malmö³⁸. Společné publikace autorů z této skupiny a výzkumníků z Ferringa byly až do ukončení její činnosti v říjnu 1986 obvyklé. Na její návrh sponzorovala firma Ferring (a později PolyPeptide Group) pro Evropskou peptidovou společnost (The European Peptide Society) „Josef Rudinger Memorial Award“, cenu udílenou za významné příspěvky k chemii peptidů, spojenou s plenární přednáškou na pravidelných Evropských peptidových sympoziích (v dvouroč-

ⁿ http://www.csbmb.cz/bulletin/2002_2.pdf

ních cyklech)^p. V roce 1983 organizovali členové kolokvia ve Stockholmu mezinárodní sympozium na téma „biogenetika neurohormonálních peptidů“, v roce 1985 pak publikované v Academic Press^q. S řadou příslušníků tohoto seskupení pak Ferring navázal užší a občas i formální kontakty: Ulf Ragnarsson (Biomedical Center, University of Uppsala) byl v letech 1980–1987 konzultantem firmy, členové jeho laboratoře (Lars-Eric Larsson, Bengt Sandberg) spolupracovali v projektech týkajících se neurohypofyzárních hormonů; spolupráce s Michaellem Szelke vedla k založení výzkumné odbočky Ferringa v Anglii. Úzké vědecké kontakty existovaly s ústavu dalších členů kolokvia, z nichž dva z nich převzali dočasně vedoucí postavení laboratoří Ferring v Malmö (Hans Vilhardt, Iain C. A. F. Robinson). Skupina ukončila svou činnost, přes nesouhlas Frederika Paulsena sen., pro neshody s nastupujícím novým vedením Ferringu. V roce 1988 převzal vedení rodinného podniku nejmladší syn Frederika staršího Frederik Dag Arfst Paulsen (*1950).

Pod jeho vedením došlo k základním změnám ve struktuře firmy, které se velmi podstatně týkaly i spolupráce s českou stranou. V rámci „joint venture“ Ferringa se skupinou Léčiva Praha vznikla v letech 1990–1992 nejprve společnost Prague Polypeptide Institute spol. s r.o. a později Ferring-Léčiva a.s., kam postupně přešla část zaměstnanců společnosti Léčiva st.p. Praha, rozšířená o další peptidové chemiky. Výrobní prostory pro produkci základních peptidů pro farmaceutické preparáty zůstaly nejprve v laboratořích Léčiv v Praze – Komořanech, později se společnost již pod názvem Polypeptide Laboratories Praha přestěhovala do laboratoří v Hostivaři, kde firma pronajala prostory dřívějšího Ústavu pro výzkum, výrobu a využití radioizotopů.

Pro produkci lékových forem byl po roce 1997 určen nově vybudovaný farmaceutický podnik společnosti „Ferring Léčiva“ v Jesenici u Prahy.

Podle firemní informace (<https://www.ferring.cz/>) byla pak česká pobočka v roce 2008 rozdělena na dvě samostatné jednotky:

- výrobní závod Ferring-Léčiva a.s. výroba lékových forem peptidů a dalších, pro společnost Ferring Group

zajímavých léčiv,

- marketingovou organizaci Ferring Pharmaceuticals CZ s.r.o.

Více než padesátileté vztahy mezi peptidovými výzkumníky v Praze a v původně malé švédské firmě Ferring AB, která se během času – a jistě i zásluhou českých partnerů – vyvinula ve významnou světovou farmaceutickou firmu, pokračovaly tak za nových historických podmínek již na zcela jiné osobní a institucionální úrovni.

LITERATURA

1. Pliska V., Pařízek A., Flegel M.: Chem. Listy 113, 675 (2019).
2. Dale H. H.: Biochem. J. 4, 427 (1909).
3. Blair Bell W.: Br. Med. J. 2, 1609 (1909).
4. Foges A.: Archiv für Gynäkologie 99, 455 (1913).
5. Blair Bell W.: Proc. R. J. Med. 8, 71 (1915).
6. Lindholm J.: Pituitary 7, 33 (2004).
7. Farini F.: Gazz. Osp. Clin. 34, 1135 (1913).
8. von den Velden R.: Berl. Klin. Wochenschr. 50, 2083 (1913).
9. Saameli K., v knize: *Neurohypophysial Hormones and Similar Polypeptides* (Berde B., ed.), str. 577. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 1968.
10. du Vigneaud V., Ressler C., Swann J. M., Roberts C. W., Gordon S., Katsoyannis P. G.: J. Am. Chem. Soc. 76, 3115 (1954).
11. du Vigneaud V., Ressler C., Swann J. M., Roberts C. W., Katsoyannis P. G., Gordon S.: J. Am. Chem. Soc. 75, 4879 (1953).
12. du Vigneaud V., Gish D. T., Katsoyannis P. G.: J. Am. Chem. Soc. 76, 4751 (1954).
13. Boissonnas R. A., Guttmann S., Jaquenoud P.-A., J.-P. Waller J.-P.: Helv. Chim. Acta 28, 1491 (1955).
14. Rudinger J., Honzl J., Zaoral M.: Collect. Czech. Chem. Commun. 21, 202 (1956).
15. Boissonnas R. A., Guttmann S., v knize: *Neurohypophysial Hormones and Similar Polypeptides* (Berde B., ed.), str. 40. Springer Verlag, Berlin 1968.

^p Trvalí příslušníci (původní působiště): Rolf Håkanson (University of Lund), Vladimír Pliska (ETH Zürich), Ulf Ragnarsson (University of Uppsala), Iain C. A. F. Robinson (National Institute of Medical Research, London), Michael Szelke (Royal Postgraduate Medical School, Hammersmith Hospital, London), Jan I. Thorell (FERRING AB, Malmö), Hans Vilhardt (University of Copenhagen), Karlheinz Voigt (Universität Ulm, později Philipps-Universität Marburg, Institut für Physiologie und Pathophysiologie), Wolfgang Wuttke (Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Göttingen). Pozoruhodné je, že čeští výzkumníci do této skupiny začlenění nebyli, ačkoliv jejich přítomnost by bývala byla velice vítána, zvláště spolupráce s T. Barthem. Vznikly ale pochybnosti, že jejich pravidelná účast na zasedáních v západních zemích by se ze strany čs. úřadů nesetkala s pochopením a bylo by tudíž nutno počítat s jejich téměř pravidelnou absencí. Vedení firmy mělo rovněž oprávněné obavy, že pokud by jejich cesta povolena byla, byli by po návratu československými orgány dotazováni na důvěrné interní záležitosti firmy.

^q The Josef Rudinger Memorial Lecture Award is presented “in commemoration of Josef Rudinger’s role in the foundation of the European Peptide Symposia and of diverse contributions he made to peptide chemistry”. The Award is presented during the EPS Symposium and is sponsored by PolyPeptide Group.

^r The FERRING Symposium on “Biogenetics of Neurohormonal Peptides” held in Stockholm, Sweden, July 1–2, 1983; Biogenetics of Neurohormonal Peptides (eds. R. Håkanson, J. Thorell), Academic Press, London 1985.

16. Krejčí I., Poláček I.: Eur. J. Pharmacol. 2, 393 (1968).
17. Krejčí I., Poláček I., Rudinger J.: Br. J. Pharmacol. Chemother. 30, 506 (1967).
18. Navrátil K.: Československá Farmacie 15, 540 (1966).
19. Hodr J., Štembera Z. K., Brotánek V., Rudinger J., Vondráček J., v knize: *Intra-Uterine Dangers to the Foetus: Based on an International Symposium, Prague, October 11th-14th, 1966* (Horský J., Štembera Z. K., Merkatz I. R., Dennis K. J., ed.), 12. díl, str. 445. Excerpta Medica Foundation, Amsterdam 1967.
20. Kynčl J., Řežábek K., Kasářík E., Pliška V., Rudinger J.: Eur. J. Pharmacol. 28, 294 (1974).
21. Rudinger J., Pliška V., Krejčí I.: Rec. Prog. Horm. Res. 28, 131 (1972).
22. Zaoral M., Kolc J., Šorm F.: Collect. Czech. Chem. Commun. 32, 1250 (1967).
23. Vávra I., Machová A., Holeček V., Cort J. H., Zaoral M., Šorm F.: Lancet 291, 948 (1968).
24. Vávra I., Machová A., Krejčí I.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 188, 241 (1974).
25. Rudinger J., Pliška V., Rychlík I., Šorm F., v knize: *Pharmacology of Hormonal Polypeptides and Proteins* (Back N., Martini L., Paoletti R., ed.), str. 66. Plenum Press, New York 1968.
26. Pliška V., Barth T., Thorn N. A.: Acta Endocrinol. 67, 1 (1971).
27. Pliška V., Thorn N. A., Vilhardt H.: Acta Endocrinol. 67, 12 (1971).
28. Carlsson L., Sjöholm I.: Acta Chem. Scand. 20, 259 (1966).
29. Sjöholm I., Carlsson L.: J. Labelled Compd. 3, 3 (1967).
30. Pliška V., Meyer-Grass M., Bersinger N., Carlsson L., Melin P., Vilhardt H.: Experientia 36, 1145 (1980).
31. Amon B.: *Ahead of His Time*. Ferring GmbH, Kiel, BRD 1999.
32. Jost K., Pliska V., Krejčí I., Šorm F.: U.S. Patent 3,973/69 (1973).
33. Jošt K., Šorm F.: Collect. Czech. Chem. Commun. 36, 297 (1971).
34. Melin P.: Regul. Pept. 45, 285 (1993).
35. Melin P., Trojnar J., Johansson B., Vilhardt H., Åkerlund M.: J. Endocrinol. 111, 125 (1986).
36. Krejčí I.: Bulletin České společnosti pro biochemii a molekulární biologii 30, 67 (2002).
37. Craig L. C.: J. Biol. Chem. 155, 519 (1944).

V. Pliska^a, A. Pařízek^b, and M. Flegel^c
^aDepartment of Biology, Eidgenössische Technische Hochschule (ETH), Zürich, Switzerland, ^bDepartment of Obstetrics and Gynecology, 1st Faculty of Medicine of Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic, ^cDepartment of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic): **Neurohypophyseal Peptides from Prague**

and Swedish Laboratories Used as Medications: Desmopressin, Terlipressin, Carbetocin. Part 1: History of Research and Beginnings of Industrial Production

From the fifties to the seventies of the last century, the neurohypophyseal peptides oxytocin and vasopressin constituted one of the main research areas at the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry in Prague (IOCB). A significant contribution to this area is associated with the names of František Šorm, director of the said institute, and Josef Rudinger, head of the institute's peptide laboratory. At that time, newly developed research tools enabled to synthesize structural analogues of these hormones in numerous laboratories worldwide and hence to investigate the structure-activity relationships within this peptide group. Contributions of single peptide-chain positions to the respective biological activities were identified which opened a possibility to rationalize a design of peptides with a combination of changes in several positions. Several clinically interesting peptides were synthesized in the late 1960s at the IOCB and employed as therapeutics: [(Gly)₃-Cys¹,Lys⁸]-vasopressin (Glypressin Ferring[®], Terlipressin INN), 1-deamino-8-D-arginine vasopressin (Desmopressin INN, dDAVP), and later the uterotonic carbetocin (INN), widely used in obstetrics to prevent postpartum haemorrhage. Since the industrial production of peptide therapeutics was scarcely possible under the conditions of socialist economy in Czechoslovakia as well as in other countries under the Soviet influence, F. Šorm agreed to use the already established scientific contacts of IOCB with the Swedish pharmaceutical company Ferring AB and to transfer the production licences to Sweden. The license agreements were signed in 1969 and led to a quick spread of dDAVP in the substitution therapy of the central form of diabetes insipidus and, moreover, contributed to a fast upsurge of the Ferring company. Somewhat later, Glypressin was produced as a therapeutic with a prolonged action in cases of cardiovascular collapse. Contacts between Prague peptide chemists and the Ferring company lasted on a rather informal base until the end of the 1980s. After the fall of the totalitarian regime in Czechoslovakia in 1990, Ferring started a joint-venture collaboration with the newly organized Czech company Léčiva st.p. Praha in a newly established group Prague Polypeptide Institute spol. s r.o. (later Ferring-Léčiva A.S.). A substantial part of the peptide-production capacities was then transferred to new buildings in Prague.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: neurohypophyseal hormones, oxytocin, vasopressin, deamino-D-arginine vasopressin, DDAVP, Glypressin, Terlipressin, Carbetocin, Ferring company, peptide drugs

● Pliska V., Pařízek A., Flegel M.: Chem. Listy 116, 20–27 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220020>

NEUROHYPOFYZÁRNÍ PEPTIDY V LÉKAŘSTVÍ Z PRAŽSKÝCH A ŠVÉDSKÝCH LABORATOŘÍ. ČÁST II: DESMOPRESSIN, TERLIPRESSIN, CARBETOCIN – FARMAKOLOGIE A KLINICKÉ APLIKACE

VLADIMÍR PLISKA^a, ANTONÍN PAŘÍZEK^b,
MARTIN FLEGEL^{c*}

^a Department of Biology, Eidgenössische Technische Hochschule (ETH), Wolfgang-Pauli-Strasse 27, CH-8093 Zürich, ^b Gynekologicko-porodnická klinika 1. lékařské fakulty UK a VFN v Praze, Perinatologické centrum, Apolinářská 18, 128 51 Praha 2, ^c Ústav chemie přírodních látek, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
vladimir.pliska@biol.ethz.ch, parizek@porodnice.cz

Došlo 12.10.21, přijato 1.11.21.

Klíčová slova: neurohypofyzární hormony, oxytocin, vasopressin, deamino-D-arginin vasopressin, DDAVP, Glypressin, Terlipressin, Carbetocin, Ferring company, peptidová léčiva

• <https://doi.org/10.54779/chl20220101>

Výroba léčiv založená na dohodách ÚOCHB ČSAV – Ferring AB

Licenčními dohodami, zmíněnými v předcházejících sděleních^{1,2}, získala v průběhu 70. a 80. let od Ústavu organické chemie a biochemie Československé akademie věd (ÚOCHB ČSAV) švédská farmaceutická firma Ferring AB Malmö práva na výrobu řady analogů a na jejich distribuci na světovém trhu mimo státy sdružené v RVHP (zkratka pro Radu vzájemné hospodářské pomoci)^a. Tři z nich našly použití jako úspěšné léky.

dDAVP: 1-deamino-8-D-arginin vasopressin (Desmopressin)

Design tohoto analogu, jímž započala spolupráce ÚOCHB s Ferringem^{1,2}, vycházel ze starších známých faktů o vlivech vypuštění N-terminální aminoskupiny a D-enantiomerní substituci v pozici 8 na antidiuretickou a vasopressorickou aktivitu u peptidů vasopressinového typu. 1-Deamino-L-arginin-vasopressin (dAVP) popsali v již roce 1966 Huguenin a Boissonnas (SANDOZ S.A., Basel)³ a později (1974) Sawyer se spolupracovníky⁴; obě laboratoře našly shodné antidiuretické (1300 a 1390 IU/mg) a vasopressorické (370 IU/mg) aktivity^b proti původnímu L-arginin-vasopressinu, tedy podstatně zvýšený antidiuretický účinek při stejné vasopressorické aktivitě. Substituce D-argininem v poloze 8 arginin-vasopressinu vedla sice k mírnému snížení antidiuretické aktivity (z 332 na 257 IU/mg (cit.⁵), resp. 114 IU/mg (cit.⁶)), ale zároveň k podstatnému poklesu aktivity vasopressorické (mezi 1,1 a 4,1 IU/mg). Kombinace obou naznačovala, že by mohlo jít o zajímavý peptid pro substituční terapii neurogení formy žíznivky^c (*diabetes insipidus*). Přesto, že kumulace strukturních modifikací v individuálních peptidech obvykle nevede k předpokládané kumulaci aktivit spojených s těmito modifikacemi, pověřil ředitel ÚOCHB František Šorm skupinu Milana Zaorala, aby peptid s kombinací obou strukturních změn syntetizovala⁷. Výsledek byl více než překvapivý. Již v prvních antidiuretických testech provedených farmakologickou skupinou ÚOCHB vykazoval kombinovaný peptid ve srovnání s 8-L-arginin-vasopressinem (AVP) antidiuretickou aktivitu nejméně padesátinásobně vyšší, aktivitu vasopressorickou testovanou skupinou Ivana Krejčího z Výzkumného ústavu přírodních léčiv^d menší než 3 %. Standardní farmakologické testy antidiuretické aktivity nejsou při tak velkých rozdílech mezi standardem a testovaným peptidem jednoznačné

* † 15. 7. 2021. Nekrolog dr. Flegela viz Drašar P.: Chem. Listy 115, 575 (2021).

^a Po likvidaci RVHP počátkem 90. let bylo toto omezení bezpředmětné a firma FERRING rozšířila činnost celosvětově.

^b Mezinárodní jednotka (IU) oxytocinu je nově definována jako uterotonická aktivita 1,68 µg mezinárodního standardu NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control); viz <https://www.nibsc.org/documents/ifu/76-575.pdf>. V přepočtu: 1 mg (nového) mezinárodního standardu (ca. 10⁻⁶ mol oxytocinu) = 595 IU. Starý standard (lyofilizované hovězí neurohypofýzy) uváděl 500 IU.

^c U klinických případů popsaných v tehdejších sděleních šlo velmi pravděpodobně o neurogení (centrální) formu žíznivky (*d.i. centralis*). U její renální formy (*d.i. renalis*), nezávislé na plasmatické koncentraci vasopressinu, jde zpravidla o mutaci genu vasopressinového receptoru V2R či jeho celulární signální dráhy.

^d Později Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii (VÚFB); na testování se podílela Laboratoř endokrinologie III. interní kliniky všeobecné fakultní nemocnice v Praze.

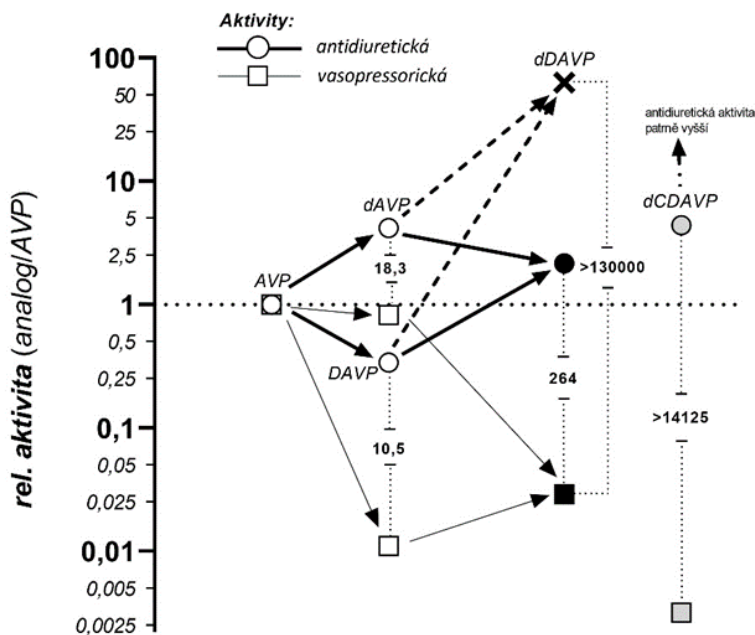
^e Přepočteno z dat ve zmíněných publikacích. Data z VÚFB pro anestetizovanou krysou jsou vztažena na tehdejší mezinárodní standard, pituitrin (extrakt z hovězí neurohypofýzy), po přepočtu ~31 560 IU/mg; v pokusech na neanestetizovaných krysách (standard: syntetický 8-lysin-vasopressin – LVP) ~25 000 až 50 000 IU/mg.

a dostatečně spolehlivé⁸: jednotlivé laboratoře udávaly hodnoty pro dDAVP mezi 870 IU/mg (cit.⁷) a zhruba 50 000 IU/mg (cit.^{9,10})^e. Hodnotu dolní meze, později znovu citovanou⁵, uvádějí autoři první (předběžné) publikace⁶, aniž zmiňují podstatně vyšší aktivity nalezené v tehdy dosud neukončených testech z ÚOCHB. Tyto pozoruhodné diskrepance lze snad částečně vysvětlit citlivostí dDAVP na i poměrně malé rozdíly v použitých testech, především však použitím často zcela rozdílných testů a v neposlední řadě nejednotnou numerickou formulací aktivit. Údaje antidiuretických aktivit z jednotlivých laboratoří pocházejí z testů na neanestetizovaných kryších hydratovaných jednorázovou perorální dávkou izotonického hydratačního media¹¹ (s 1–2 % ethanolu, nebo bez alkoholu), nebo kryš s trvale udržovanou hydratací odpovídající 8–10 % tělesné váhy zvířete^{12,13}. Antidiuretický efekt je vztažen na celkový objem či váhu vyloučené moči, tedy veličinu definovanou ve farmakologických měřeních jako AUC (area-under-the curve), hodnotu časového integrálu diuretické křivky. V případě, kdy aktivita je definována jako podíl k danému standardu (zde tedy AVP), musí AUC být vztažen na definovanou časovou limitu¹⁴. Není-li tomu tak, postrádá konečný údaj spolehlivou srovnávací hodnotu. (Tak je tomu např. u některých výše citovaných dat¹⁰).

V případě nerovnoběžných závislostí dávka-účinek je tudíž pojem relativní specifické aktivity neadekvátní a dovoluje jen srovnání ekvipotentních dávek (dávek dvou látek působících stejný účinek) na různých úrovních účinku.

Obr. 1 znázorňuje spektrum publikovaných antidiuretických a vasopresorických aktivit jednotlivých „mezistupňů“ vývoje dDAVP a zároveň i index preference pro antidiuretickou aktivitu (čísla mezi svislými šipkami), zde *ad hoc* definovaný jako produkt poměru antidiuretická/vasopresorická aktivita $\times$ relativní antidiuretická aktivita. Jeho vysoké hodnoty pro udávané meze antidiuretické aktivity dokumentují jeho přednost mezi analogy potenciálně použitelné v substituční terapii žíznivky.

Pokud jde o délku trvání účinků dDAVP: prodloužený účinek byl jeden z parametrů, který byl již od plánované syntézy předpokládán a požadován. Autoři první klinické publikace¹⁰ udávají pro dDAVP 12,75krát pomalejší eliminaci účinku ve srovnání s pituitárním standardem (tj. AVP), což by svědčilo o vysoké metabolické stabilitě analogu v cílových tkáních. Jejich údaje (obr. 1 v citované publikaci) však svědčí o tom, že nešlo o kinetickou analýzu a udávaná vysoká charakteristika perzistence není důvěryhodná. Srovnání směrnic lineárních částí závislosti dávka-účinek¹⁴ naznačuje přibližný index perzistence (I_p)



Obr. 1. Schéma designu dDAVP předpokládajícího kumulaci požadovaných aktivit peptidů s izolovanou strukturní změnou. Anti-diuretická (kroužky) a vasopresorická (čtverce) aktivita analogů arginin-vasopressinu (AVP), deamin-arginin-vasopressinu (dAVP), D-arginin-vasopressinu (DAVP) a kombinovaného peptidu deamin-D-arginin-vasopressinu (dDAVP, černé symboly). Rozdíly obou aktivit jsou označeny svislými tečkovanými spoji, čísla mezi nimi udávají „*ad hoc* index preference“ pro antidiuretickou aktivitu: produkt poměru antidiuretická/vasopresorická aktivita $\times$ relativní antidiuretická aktivita (analog/AVP). Dva údaje antidiuretických aktivit pro dDAVP odpovídají rozdílným údajům z různých zúčastněných laboratoří, používajících často rozdílné antidiuretické testy (viz text); nižší hodnota se vztahuje k extrapolované (prahové) dávce peptidu, specifická aktivita pro vyšší dávky¹⁰ není jednoznačně definována ($\times$ označuje přibližnou horní hranici dat uváděných v literatuře). Schéma naznačuje, že v případě dDAVP byl předpoklad kumulace strukturních modifikací v různých polohách peptidového řetězce do značné míry splněn. Pro srovnání jsou uvedeny aktivity dCDAVP (šedé symboly; viz text). Antidiuretická aktivita (2200 IU) byla testována na neanestetizované kryse²¹; její hodnota v testu (krysa v ethanolové narkóze) podle autorů velmi vysoká a standardní metodou neměřitelná. Index preference je tudíž ve srovnání s dDAVP mnohem vyšší.

v mezích 2,5 a 3,9. Rovněž údaje poločasu diurézy v následující publikaci⁹ dovolují hrubý údaj ineksu perzistence (použitím např. přepočtu podle Kimury a Yokoyamy¹⁵), v důsledku volby neadekvátních experimentálních podmínek však neumožňují detailní analýzu. Nicméně, přepočet naznačuje $I_p \approx 2$, tedy hodnotu blízkou předpokladu. Ačkoliv v pracích T. Bartha a jeho skupiny na UOCHB byla kinetická analýza různých řad neurohypofyzárních peptidů prováděna velmi důkladně, dDAVP do těchto studií zahrnut nebyl. Zvýšenou perzistenci a s ní spojený prodloužený účinek je patrně spojen s hydrolyzou N-terminální peptidové vazby (cysteintyrosin), která v analogických případech vede k dvoj- až čtyřnásobnému zvýšení indexu perzistence. Udávané extrémní hodnoty perzistence v citované publikaci¹⁰ jsou

tedy patrně důsledkem předávkování tohoto velmi účinného antidiuretika v citovaných pokusech.

Terapeutický potenciál dDAVP byl ovšem rychle odhadnut a substance sama byla kryta americkým patentem¹⁶ (US 3,497,491; Feb. 24, 1970; obr. 2). Eventuální další patenty se tedy mohly týkat pouze produkčního postupu, případně nových aplikací. V tomto směru měl Ferring v době udělení patentu již vybudovanou potřebnou infrastrukturu a licenční podmínky byly tudíž pro obě strany – ČSAV a Ferring – výhodné. Licenční dohoda mezi Československou akademií věd (podpis na dohodě: K. Friml, Secretary General), Polytechnou^f (dva nečitelné podpisy) a Ferringem (S. Matarasso, Managing Director; J. Mulder, Research Director) byla uzavřena v Praze v roce 1971.

United States Patent Office

3,497,491

Patented Feb. 24, 1970

1

3,497,491

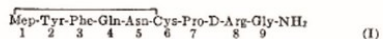
1-DEAMINO-8-D-ARGININE VASOPRESSIN

Milan Zaoral, Ivan Vavra, Alena Machova, and Frantisek Sorm, Prague, Czechoslovakia, assignors to Československa Akademie Ved., Prague, Czechoslovakia
No Drawing. Filed Sept. 14, 1967, Ser. No. 667,679
Claims priority, application Czechoslovakia, Sept. 15, 1966, 5,996/66

Int. Cl. C07c 103/52; A61k 17/00; C07d 93/36
U.S. Cl. 260—112.5

1 Claim

ABSTRACT OF THE DISCLOSURE



wherein Mep is β -mercaptopropionic acid (Mep) at position 1 and D-arginine is at position 8.

The compound of the invention has a high and specific antidiuretic action.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Compounds exhibiting a high and specific antidiuretic activity are important in the therapy of diabetes insipidus. Such compounds are well known and represent structural modifications of the vasopressin molecule. The most suitable properties have been observed in the case of 1-deamino-Phe²-Arg⁸-vasopressin (cf. the table below).

SUMMARY OF THE INVENTION

It is an object of the present invention to provide for an antidiuretic that has a higher degree of activity and is more specific in its action than the just named vasopressin compound.

This is accomplished by a polypeptide of

2

which latter is then oxidized, preferably with potassium ferricyanide in an aqueous solution at pH 6.5–7 to give the polypeptide of Formula I.

The protected octapeptide derivative of Formula II can also be obtained by other procedures such as are conventional in the preparation of polypeptides. The compound II may be thus prepared by a stepwise synthesis starting with the amino terminal group as well as the carboxylic terminal group, or by coupling of polypeptides containing the partial amino acid sequences of the final polypeptide of Formula I. The temporary protection of the amino groups, mercapto (sulfhydryl) groups and of the guanidine group may be performed by means of substituents that are conventional in the synthetic chemistry of polypeptides. E.g., a t-butyloxycarbonyl, o-nitrophenylsulfonyl or trityl group can be used for blocking of the amino groups, a trityl, benzoyl, or benzylthiomethyl group for the protection of the sulfhydryl function, and a tosyl or benzyloxycarbonyl group for the protection of the guanidine group.

The protective groups are then removed in the usual manner in one stage or successively. Oxidation of the reduced form of the polypeptide of Formula III to the cyclic polypeptide of Formula I may be accomplished by methods known per se, for instance, in an aqueous solution or in a mixture of water and solvents miscible with water.

Preferably, the following method is used. Condensation of β -benzylmercaptopropionyl chloride with tyrosine methyl ester leads to the so far unreported β -benzylmercaptopropionyl-L-tyrosine methyl ester. By the action of hydrazine hydrate, the latter compound is converted to the so far likewise unreported hydrazide and is then coupled with L-phenylalanine methyl ester. The resulting dipeptide ester derivative is condensed, again in the form of the azide, with L-glutamyl-L-asparaginyl methyl

Obr. 2. U.S. patent chránící dDAVP jako substanci a původní postup její syntézy, únor 1970

^f Polytechna (dnes: Polytechna Consulting, a.s.) byl státní podnik zahraničního obchodu, který zprostředkoval též výměnné zdravotnické služby, včetně lidské síly v zahraničí. Jeden z autorů (A.P.) upozorňuje na údaje kolegů-lékařů, kteří zprostředkováním Polytechny odjížděli pracovat např. na Maltu nebo do severní Afriky: Polytechna si přivlastňovala velkou část jejich výdělků. Na druhé straně bylo známo, že ten, kdo vyjel prostřednictvím Polytechny, byl podezřelý ze spolupráce s vládními a stranickými špiónážními složkami (KSČ a STB).

Klinické využití dDAVP bylo pak v druhé polovině 70. let rozšířeno o hematologické aplikace, vycházející ze studií o hemostatickém účinku vasoaktivních peptidů. Cash a spol.¹⁷ (Regional Blood Transfusion Centre, Royal Infirmary, Edinburgh) poukázali na zvýšené vyplavování aktivátoru plasminogenu a koagulačního faktoru VIII po intravenózní aplikaci neurohypofyzárních hormonů vasopressinového typu, včetně dDAVP. Později rozšířili tuto studii o další zajímavá analoga¹⁸. Pozoruhodně vysokou hemostatickou aktivitu našli u 6-karba-analogu dDAVP (dCDAVP); naproti tomu zcela neúčinný byl 8-arginin-vasotocin. Použití dDAVP ke zvýšení koncentrace faktoru VIII u pacientů s lehkou formou hemofilie A, von Willebrandova-Jürgensova syndromu a trombocytárních dysfunkcí popsal pak hematolog Pier Mannuccio Mannucci z milánské univerzity se spolupracovníky^{19,20}. Prevalence těchto poruch hemostázy, zpravidla dědičných, je zjevně vyšší než prevalence *diabetes insipidus*; dDAVP (Minirin® Ferring, Desmopressin INN) našel tak širší uplatnění při akutních lehkých spontánních krváceních a při menších chirurgických zásazích (ku příkladu ve stomatologii)⁸. To vše velice podstatně zvýšilo význam licence, kterou Ferring dohodou s ÚOCHB získal.

Případ dDAVP zároveň demonstruje časté rozdíly v úplnosti farmakologických a klinických dat. Zatímco klinická dokumentace dDAVP je obsáhlá a detailní, spolehlivé farmakologické údaje jsou nedostatečné. Ne zcela vysvětlitelné jsou zmíněné rozpory v údajích aktivit mezi jednotlivými laboratořemi, chybějící farmakokinetická data a ostatně i doklad o tom, že dDAVP představuje pro klinické účely optimální volbu ve skupině analogů s velmi podobným spektrem aktivit. Publikovaná data naznačují, že pro stejné terapeutické aplikace by takovým mohl být ku příkladu později syntetizovaný karba-6-analog dDAVP²¹, 1-deamino-8-D-arginin-6-karba-vasopressin (dCDAVP, obr. 1). S ohledem na úspěch, který dDAVP v klinickém použití doznal, není ovšem tato akademická kritika zcela podstatná.

Triglycyl-8-lysine-vasopressin (Terlipressin)

V počáteční fázi licenčních dohod ÚOCHB s Ferringem figurovala vedle dDAVP také skupina analogů neurohypofyzárních hormonů s prodlouženým peptidovým řetězcem na N^α-koncové aminoskupině, pro něž se ujal (původně pracovní) označení „hormonogeny“²². Jejich syntéza byla motivována představou, že převládající inaktivační proces oxytocinu a vasopressinu vzniká štěpením peptidové vazby mezi 1-hemicystinem a 2-tyrosinem aminopeptidasami, patrně enzymem leucin-aminopeptidasového typu²³. Od prodloužení N-konce amidopeptidasami štěpitelnou aminokyselinou či krátkým peptidovým řetězcem se očekávalo postupně (a dočasné) uvolňování aktivního hormonu a tudíž prodloužení příslušného

biologického účinku *in vivo*²⁴. Tento předpokládaný mechanismus byl postupně potvrzen syntézou řady analogů 8-lysine-vasopressinu^{22,25–27} a oxytocinu^{28,29} s výrazně prodlouženými účinky antidiuretickými, vasopresorickými a uterotonickými, s indexem perzistence I_p mezi 1 (pro lehce štěpitelné aminoscidové substituenty – leucin, tyrosin) až 5. N^α-(Gly)₃-[Cys¹,Lys⁸]vasopressin, jehož standardní biologické aktivity na kryse jsou sice nízké (antidiuretická 2,7, vasopresorická 2,1 IU/μmol, t.j. kolem 0,5 % aktivit lysine-vasopressinu), index perzistence ale vysoký ($I_p \approx 5$)²², naznačoval ve farmakologických testech možnost klinického využití jako vazokonstričního spazmolytika zvyšujícího periferní vaskulární rezistenci při hrozcím hemoragickém šoku. Prodloužený terapeutický účinek je výhodou především v akutních stavech ezofageálního a jiném gastrointestinálním krvácení³⁰, traumatickém a septickém šoku, u cirhotických pacientů s portální hypertensí³¹ a s tzv. hepatorenálním syndromem³². (Stručný přehled klinického použití publikovali v roce 2004 Kam a spol.³³).

Analoga 8-lysine-vasopressinu acylované glycinovými peptidy na N-koncové aminoskupině byly původně chráněny československým patentem CS 4,399/64 (1.8.1964), později patenty v dalších zemích včetně Spojených států (US 3,558,590; July 30, 1968). Patenty kryjí, velmi obecně, deriváty lysine-vasopressinu N-acetylované „krátkými peptidy obsahujícími glycin“, tedy rozsáhlou skupinu peptidů včetně meziproduktů jejich syntézy uváděné spolu s diglycyl- a triglycyl-analogem jako příklady. Licenci na jejich produkci získal Ferring již v první fázi spolupráce s ÚOCHB a registroval druhý z nich pod názvem Terlipressin (INN, Glypressin®). Z četných publikací po roce 1974 lze vyvodit jeho rychlé rozšíření v četných klinikách, i když v omezeném rozsahu aplikací.

V klinickém zkoušení byla také případná možnost použití triglycyl-vasopressinu jako kontraceptiva. Tento peptid hormonogenního typu má značně protražovaný presorický účinek a nízký, vasopressinu podobný uterotonický efekt. Předpokládalo se, že peptid během I. trimestru těhotenství způsobuje kontrakční činnost hladké svaloviny dělohy a tím smrt plodu. Odhlížeje od etické stránky testování podobných hypotéz, naráží zde fyziologický výzkum na téměř nepřekonatelné potíže: průběh deciduální a struktura placenty jsou u jednotlivých savců zásadně odlišné a tudíž data získaná v pokusech na zvířeti nelze v tomto specifickém případě v humánní medicíně použít. Pokud je nám známo, další kroky v tomto směru nebyly podniknuty.

Carbetocin: veterinární a humánní uterotonikum

Motivace syntézy a farmakologické závěry

Carbetocin (INN)^h, deaminokarba¹-2-O-methyltyrosin-oxytocin, dnes rozšířené uterotonikum, byl syntetizován

^g Pro zajímavost: dDAVP pronikl, byť epizodicky, i do současné anglické beletrie; viz Barbara Vine: *The Blood Doctor*, Viking – Penguin Random House, London 2002.

^h Generikum pod názvem DURATOCIN®

před rokem 1971 v laboratoři Karla Jošta v rámci výzkumu potenciálních antagonistů oxytocinu. Ohlášen byl k patentování v Československu v únoru 1971; udělení čs. patentu (CS-149028 B1; 15. 6. 1973)³⁴ následovalo v červnu 1973. Jak je zřejmé, nešlo o ochranu látky samotné – to nebylo v československém patentním řízení té doby přípustné, nýbrž o postup její přípravy. Bližší popis tehdy použité syntézy spolu s údaji o biologických aktivitách byl popsán v roce 1974 v publikaci o fyzikálně-chemických vlastnostech karba-analogů oxytocinu³⁵. Tato publikace poprvé zahrnující též carbetocin je z různých hledisek pozoruhodná, uvedené biologické aktivity carbetocinu (zmiňované spíše na okraj) nevzbudily však z farmakologického hlediska zvláštní pozornost: uterotonická aktivita v pokuse na krysí děloze byla zhruba 3,5 % (*ex vivo*) a 7 % (*in vivo*) aktivity oxytocinu; výrazný antagonismus *ex vivo* zprvu prokázán nebyl. Byl však dokumentován v pozdějších pokusech na izolovaných buněčných membránách krysího myometria³⁶. Stejná studie prokázala, že jde o parciálního agonistu oxytocinu (maximální kontrakce dělohy *ex vivo* dosáhla 50 % kontrakce inicializované oxytocinem), patrně v důsledku inhibice části oxytocinových receptorů carbetocinem samotným a jeho postupně vznikajícími metabolity (tab. I, obr. 3). Inhibici oxytocinu *in vivo* a s ní spojený tokolytický účinek nebylo tudíž možné předpokládat, peptid vykazoval zhruba 10× nižší uterotonickou aktivitu oxytocinu (viz tab. I). Poločas uterotonického účinku *in vivo* u krysy je relativně k oxytocinu několikanásobně delší³⁷ (poměr rychlostních konstant eliminace je 3,5), především patrně v důsledku vypuštění N-terminální aminokyseliny (farmakologická data jsou shrnuta v tab. I). V souhrnu se tedy carbetocin ve srovnání

s oxytocinem jevil jako dlouhodobě působící agonista se slabším uterotonickým efektem. V té době však byla antagonisticky působící oxytocinová analoga jedním z prioritních zájmů pražského ÚOCHB³⁸ a tímto zájmem byla též motivována syntéza carbetocinu. K tomu několik poznámek:

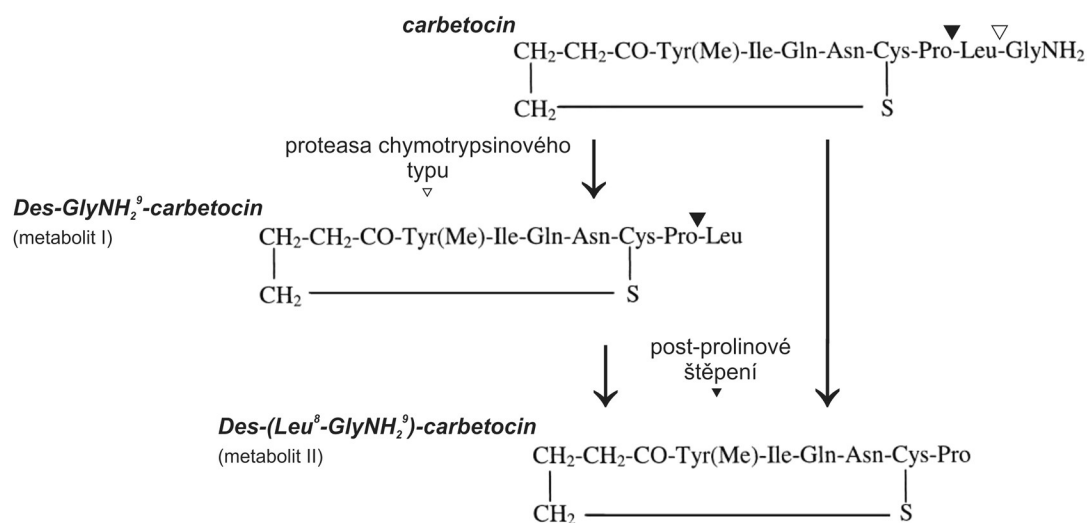
Antagonismem uterotonických účinků oxytocinu v širším smyslu se v druhé polovině 60. let zabýval především Josef Rudinger na ÚOCHB a skupina Ivana Krejčího na VÚFB. Jejich studie byly shrnuty v řadě publikací^{23,38,39}. Zájem o antagonisty oxytocinu na této bázi byl podnícen rovněž možností jejich použití v klinické praxi při hrozícím spontánním potratu (*abortus imminens*) a trval i po odchodu Josefa Rudingera do Švýcarska v roce 1968. Koncem 60. let syntetizoval Karel Jošt 1-N^a-acetylcystein-2-O-methyltyrosin-oxytocin⁴⁰, jeden z prvních inhibitorů uterotonického účinku oxytocinu, chráněný patenty ve více než dvou desítkách zemí (ve Spojených Státech US 3,752,799; Aug. 14, 1973, US 260-112.5, Int. Patent No. 3,752,799; cit.⁴¹). Ještě před publikací projevil zájem o toto potenciální tokolytikum Jan Mulder a spolu s jedním z nás (V.P.) připravoval v říjnu 1969 podklady pro klinickou registraci ve Švédsku. Doklady o dalším licenčním jednání s ÚOCHB nejsou známy; pravděpodobné je, že licence byla udělena, ale další vývoj analogu ve Švédsku nepokračoval. Možné je, že další kroky v klinických zkouškách byly odloženy v očekávání, že nově syntetizované látky budou případně mít výhodnější antagonistické vlastnosti než stávající peptid s poměrně nízkou inhibiční konstantou – na krysí děloze *ex vivo* se udává $pA_2 = 7,03$ (cit.⁴²).ⁱ Zajisté byly další kroky v tomto směru ovlivněny i náhlým úmrtím Jana Muldera v roce

Tabulka I
Carbetocin a inhibitory uterotonické aktivity oxytocinu

	Parametry uterotonického účinku (krysa)				Poločas eliminace [min]		
	aktivita [IU/mg]		pD_2	partiální agonismus (relativní E_{max})	antagonismus pA_2 ^a	člověk	
	<i>in vivo</i>	<i>ex vivo</i>				netěhotné ženy ^b	<i>post partum</i> ^c (24–48 h)
Oxytocin	470	485	8,28	1		5,5–6,1	2,5
Carbetocin	45	17,1	7,32	0,52	8,21	41–42,7	60
Metabolit I ^e					7,81		
Metabolit II ^e					8,01		
Atosiban					8,29		
Ac-Tyr(Me)-OXT ^f					7,03		

^a Antagonistická aktivita vůči oxytocinu *in vitro* (pA_2 ; viz text, pozn.ⁱ). Dolní část tabulky zahrnuje další potenciální inhibitory zmíněné v textu, včetně metabolitů carbetocinu. ^b Plasmatická clearance (Sweeney et al. 1990, cit.⁴⁸); ^c Clearance odvozená z uterotonického účinku (Hunter et al. 1992, cit.⁴⁹); ^d Clearance odvozená z uterotonického účinku (Barth a spol. 1980, cit.³⁷); ^e Identifikované štěpné produkty carbetocinu³⁶. ^f N^a-acetyl-2-O-methyltyrosin-oxytocin⁴⁰

ⁱ pA_2 : negativní dekadický logaritmus molární koncentrace antagonisty redukující efekt E libovolné koncentrace agonisty na polovinu, $E/2$.



Obr. 3. **Potenciální metabolity carbetocinu identifikované *in vitro* a jejich antagonistické vazby (pA_2) na oxytocinovém receptoru (krysa)³⁶.** V prvním stupni se předpokládá paralelní štěpení C-terminální peptidové vazby leucin-glycinamid („chymotrypsin-like enzyme“⁵⁰⁻⁵², bílý trojúhelník; metabolit I) a enzymem hydrolyzujícím vazbu Pro⁷-Leu⁸ („postproline cleavage enzyme“^{53,54}, černý trojúhelník; metabolit II), v dalším stupni následné štěpení metabolitu I na konečný metabolit II

1976. Intenzivní vývoj nových antagonistů v Malmö pokračoval po nastoupení nového ředitele výzkumu Hanse Vilhardta, převážně pod vedením farmakologa Per Melina. Jeho výsledkem byl v druhé polovině 80. let analog 1-deaminocystein-8-ornitin-oxytocin s dalšími změnami v poloze 2 (D-*O*-ethyltyrosin) a 4 (threonin)⁴³, který se stal postupně standardním inhibitem v experimentální farmakologii a fyziologii neurohypofyzárních peptidů (pA₂ = 8,29) a jako Atosiban (INN) rozšířeným klinickým tokolytikem^{44 j}.

Zdá se, že neprokazatelnost antagonismu u carbetocinu byla pro pražskou peptidovou skupinu zklamáním a ani jeho agonistické účinky neslibovaly výrazné výhody ve srovnání s jinými uterotoniky. Vysvětlovalo by to okolnost, proč tento analog, resp. jeho původní syntéza, nebyl chráněn v zemích, jejichž farmaceutický průmysl byl schopen v krátkém čase zajistit jeho produkci. Jeho patentové krytí nebylo tudíž příliš důsledné a řada firem má carbetocin ve svých nabídkách. Podmínky, za jakých převzal Ferring v této situaci carbetocin do svého výrobního programu (patrně opět v licenci Čs. akademie věd), nemohli autoři tohoto sdělení zjistit.

Carbetocin jako veterinární léčivo

Jeho první klinické použití ve veterinární medicíně spadá do druhé poloviny 70. let. Patrně z popudu Karla Jošta (ÚOCHB) převzal veterinární klinický vývoj carbe-

tocinu a jeho zavedení do veterinární praxe Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva v Pohoří-Chotouni u Jílového (jeho ředitelem byl Bohumil Ševčík; ústav byl v červnu 1994 zakoupen firmou FATRO SPA, Bologna). Dokumentace pro FDA (Food and Drug Administration^k) ve formě „Drug Master File“ (DMF) pro léčivou látku (Depotocin^k) byla sestavena v pražské společnosti PolyPeptide Laboratories s.r.o. (PPL, viz níže) pro firmu Veyx-Pharma GmbH, Sachwarzenborn (Hessen). Deklarovaným cílem bylo usnadnění a vedení porodu u krav a prasnic, především ale snaha dosáhnout synchronizovaného porodu ve velkochovech, v nichž zvířata byla uměle inseminována ve stejný den. Očekávalo se též omezení nutné asistence veterinárních lékařů při porodech – tedy charakteristické cíle zkolektivizovaného chovu užitkových zvířat. Ukázalo se však, že zatímco porod mláďat bylo možno prakticky synchronizovat, porod placenty probíhal nezávisle a měl odlišný průběh. Přesto se stal carbetocin ve veterinární medicíně běžně užívaným prostředkem k indukci a vedení porodu; jevil se jako obecně šetrnější ve srovnání s oxytocinem už tím, že snižoval frekvenci porodních a poporodních komplikací. Zdůrazňovanou předností bylo bezpečnější vedení porodu u krav⁴⁵ a zvláště u (multiparitních) prasat^{46,m}, absence tetanické kontrakce uteru (časté při použití oxytocinu), zamezení poporodní hypoxie/asfyxie selat a urychlení involuce dělohy *post partum* u krav⁴⁷.

^j Tractocile[®], *FERRING Pharmaceuticals A/S*

^k Státní instance povolující užití léčiv a poživatin v U.S.A. Její rozhodnutí jsou téměř universálně přebírána i mimo U.S.A..

¹ https://de.wikipedia.org/wiki/Drug_Master_File

Zde je nutno podotknout, že výzkum prováděný ve jmenovaném ústavu nebyl *in extenso* publikován. Prvé publikace z jiných laboratorí pocházejí z let 1977–1979. Výzkum ve veterinární medicíně však později usnadnil zavedení carbetocinu v humánní medicíně, především v porodnické praxi.

Carbetocin, humánní klinická aplikace

V humánní medicíně se carbetocin stal v posledním desetiletí celosvětově používaným lékem pro prevenci a léčbu porodnického krvácení, z hlediska matky nejčastější a nejnebezpečnější komplikací porodu.

K fyziologické zástavě porodního krvácení dochází po porodu dítěte ve III. době porodní v důsledku redistribuce v cirkulaci krve a současně k aktivaci hemostatických faktorů. Tato závěrečná část porodu je časově přesně klinicky ohraničena: začíná porodem dítěte (plod přestává být plodem a stává se novorozencem) a končí porodem placenty. Při oddělování placenty od stěny dělohy je hemostáza řízena kombinací dvou mechanismů:

- retrakci hladké svaloviny dělohy (myometrium). Tím vzniká komprese cévního řečiště, kterým byla zásobena vedle myometria i placenta. Výsledkem je mechanická hemostáza;
- hemostatickými faktory z děložní sliznice v těhotenství (deciduaⁿ), kdy působí tkáňový faktor, inhibitor aktivátoru plazminogenu typu 1, systémové koagulační faktory (fibrinogen apod.), které způsobují srážení krve.

V patologických případech dochází k poruše alespoň jednoho ze čtyř zúčastněných faktorů označovaných také jako 4T (tonus – trauma – tkáň – trombin); následkem může být závažné, až život ohrožující krvácení. Peripartální krvácení (*peripartum/postpartum hemorrhage*, dále také PPH) patří mezi pět nejčastějších příčin úmrtí žen v souvislosti s těhotenstvím, porodem a šestineděním (trombembolická nemoc, hypertenzní choroby, kardiopatie, sepsa a PPH). Je tomu tak jak v zemích s vysokými, tak i nízkými příjmy na obyvatele, i když absolutní riziko úmrtí na peripartální krvácení v zemích s vysokými příjmy je mnohonásobně nižší.

Pro snížení rizika PPH u všech vaginálních porodů ve III. době porodní a po vybavení plodu při porodu císařským řezem, byl dosud lékem první volby intravenózně nebo intermuskulárně aplikovaný oxytocin. Od druhé poloviny 90. let minulého století se v klinické medicíně ke stejným účelům stále častěji uplatňuje carbetocin. Mechanismus účinku obou peptidů je stejný,

ve III. době porodní (porod placenty) zvyšují stažení (retrakci) dělohy, a tím působí proti hypotonii nebo dokonce atonii dělohy, což bývá až v 80 % příčinou peripartálního život ohrožujícího krvácení (podle definice se jedná o krevní ztrátu vyšší než 1500 ml krve matky). Ve srovnání s oxytocinem je výraznou předností carbetocinu, jako uterotonika v této kritické porodnické situaci, jeho podstatně delší eliminační poločas (přibližně 8krát u netěhotných žen⁴⁸, 10- až 20krát 24–48 hodin *post partum*⁴⁹). Má tudíž mnohem delší účinek než oxytocin. Podává se pouze intravenózně, rychlostí 100 µg během jedné minuty. V případě carbetocinu nejsou přitom popisovány závažné vedlejší účinky.

V důsledku neúplného patentového chránění carbetocinu jako substance produkuje od počátku 21. století několik firem na jeho bázi i veterinární léčiva (Depotocin[®]: Veyx Pharma, Germany; WDT, Germany; Veyx-Pharma, Netherlands a Tett nang, Baden-Württemberg, BRD; Decomoton[®]: Calier Polska; Laboratorios Calier SA, Barcelona; atd.)^o. Ferring AB však zůstává nejvýznamnějším distributorem jeho lékových forem (pod různými jmény^p) pro humánní medicínu.

Carbetocin, navržený a poprvé syntetizovaný v laboratoři Karla Jošta na pražském Ústavu organické chemie a biochemie, se tak stal díky úzké spolupráci se švédskou firmou účinným, často používaným lékem v kritických porodnických stavech.

LITERATURA

1. Pliska V., Pařízek A., Flegel M.: Chem. Listy 116, 19 (2022).
2. Pliska V., Pařízek A., Flegel M.: Chem. Listy 113, 675 (2019).
3. Huguenin R. L., Boissonnas R. A.: Helv. Chim. Acta 49, 695 (1966).
4. Sawyer W. H., Acosta M., Balaspiri L., Judd J., Manning M.: Endocrinology 94, 1106 (1974).
5. Manning M., Balaspiri L., Moehring J., Haidar J. H. S. W.: J. Med. Chem. 19, 842 (1976).
6. Zaoral M., Kolc J., Šorm F.: Collect. Czech. Chem. Commun. 32, 1242 (1967).
7. Zaoral M., Kolc J., Šorm F.: Collect. Czech. Chem. Commun. 32, 1250 (1967).
8. Pliška V., Krejčí I.: Arch. Int. Pharmacodyn. 161, 289 (1966).
9. Vávra I., Machová A., Krejčí I.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 188, 241 (1974).
10. Vávra I., Machová A., Holeček V., Cort J. H., Zaoral

^m Autor tohoto sdělení není totožný s J. H. Cortem (Joseph Henry Cort): Nicholas Cort, PhD, DVM, Department of Obstetrics & Gynecology, College of Veterinary Medicine, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, je uváděn jako Senior research scientist ve FERRING Pharmaceuticals. Autorům není známo, zda je v příbuzenském poměru s J. H. Cortem.

ⁿ <https://www.wikiskripta.eu/w/Decidua>

^o Přehled firem: <https://www.drugs.com/international/carbetocin.html>

^p Lonactene[®], Duratocin[®], Pabal[®], Duratobal[®].

- M., Šorm F.: *Lancet* 291, 948 (1968).
11. Burn J. H.: *Quart. J. Pharm. Pharmacol.* 4, 517 (1931).
 12. Pliška V., Rychlík I.: *Acta Endocrinol.* 54, 129 (1967).
 13. Sawyer W. H.: *Endocrinology* 63, 694 (1958).
 14. Pliška V.: *Arzneim.-Forsch.* 16, 886 (1966).
 15. Kimura T., Yokoyama R.: *Tohoku J. Exp. Med.* 109, 281 (1973).
 16. Zaoral M., Vavra I., Machova A., Sorm F.: US Patent: US 3497491 DA (1970).
 17. Cash J. D., Gader A. M., da Costa J.: *Br. J. Haematol.* 27, 363 (1974).
 18. Prowse C. V., Sas G., Gader A. M. A., Cort J. H., Cash J. D.: *Br. J. Haematol.* 41, 437 (1979).
 19. Mannucci P. M., Ruggeri Z. M., Pareti F. I., Capitanio A.: *Lancet* 310, 1171 (1977).
 20. Mannucci P. M., Ruggeri Z. M., Pareti F. I., Capitanio A.: *Lancet* 309, 869 (1977).
 21. Jošt K., Procházka Z., Cort J. H., Barth T., Škopková J., Prusík Z., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 39, 2835 (1974).
 22. Kynčl J., Řežábek K., Kasafírek E., Pliška V., Rudinger J.: *Eur. J. Pharmacol.* 28, 294 (1974).
 23. Rudinger J., Pliška V., Krejčí I.: *Rec. Prog. Hormone Res.* 28, 131 (1972).
 24. Pliška V., Chard T., Rudinger J., Forsling M. L.: *Acta Endocrinol.* 81, 474 (1976).
 25. Kasafírek E., Rábek V., Rudinger J., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 31, 4581 (1966).
 26. Zaoral M., Pliška V., Řežábek K., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 28, 747 (1963).
 27. Zaoral M., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 30, 2812 (1965).
 28. Jošt K., Rudinger J., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 28, 2021 (1963).
 29. Beranková-Ksandrová Z., Bisset G. W., Jošt K., Krejčí I., Pliska V., Rudinger J., Rychlík I., F. Š.: *Br. J. Pharmacol.* 26, 615 (1966).
 30. Cort J. H., Hammer J., Ulrych M., Píša Z., Douša T., Rudinger J.: *Lancet* 284, 840 (1964).
 31. Rabøl A., Juhl E., Schmidt A., Winkler K.: *Digestion* 14, 285 (1976).
 32. Döhler K. D., Meyer M.: *Best Pract. Res., Clin. Anaesthesiol.* 22, 335 (2008).
 33. Kam P. C. A., Williams S., Yoong F. F. Y.: *Anaesthesia* 59, 993 (2004).
 34. Jošt K., Barth T., Krejčí I., Šorm F.: CS Patent: CS-149028 B1 (1973).
 35. Frič I., Kodíček M., Jošt K., Bláha K.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 39, 1271 (1974).
 36. Engström T., Barth T., Melin P., Vilhardt H.: *Eur. J. Pharmacol.* 355, 203 (1998).
 37. Barth T., Slaninová J., Lebl M., Jošt K.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 45, 3045 (1980).
 38. Rudinger J., Krejčí I., v knize: *Neurohypophysial Hormones and Similar Polypeptides* (Berde B., ed.), str. 748. Springer Verlag, Berlin 1968.
 39. Krejčí I., Poláček I., Rudinger J.: *Br. J. Pharmacol. Chemotherapy* 30, 506 (1967).
 40. Jošt K., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 36, 297 (1971).
 41. Jost K., Pliska V., Krejčí I., Sorm F.: US Patent: US 3,752,799 (1973).
 42. Krejčí I., Kupková B., Barth T., Jošt K.: *Physiol. Bohemoslov.* 22, 315 (1973).
 43. Melin P., Trojnar J., Johansson B., Vilhardt H., Åkerlund M.: *J. Endocr.* 111, 125 (1986).
 44. Åkerlund M., Carlsson A. M., Melin P., Trojnar J.: *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 64, 499 (1985).
 45. Věžník Z., Holub A., Zralý Z., Kummer V., Holčák V., Jošt K., Cort J. H.: *Am. J. Vet. Res.* 40, 425 (1979).
 46. Cort N., Einarsson S., Viring S.: *Am. J. Vet. Res.* 40, 430 (1979).
 47. Bajcsy Á. C., Szenci O., van der Weijden G. C., Doornebal A., Maassen F., Bartyik J., Taverne M. A. M.: *Theriogenology* 65, 400 (2006).
 48. Sweeney G., Holbrook A. M., Levine M., Yip M., Alfredsson K., Cappi S., Ohlin M., Schulz P., Wassenaar W.: *Curr. Ther. Res.* 47, 528 (1990).
 49. Hunter D. J. S., Schulz P., Wassenaar W.: *Clin. Pharmacol. Ther.* 52, 60 (1992).
 50. Barth T., Pliška V., Rychlík I.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 32, 1058 (1967).
 51. Barth T., Hütter H. J., Pliska V., Šorm F.: *Experientia* 25, 646 (1969).
 52. Glass J. D., Dubois B. M., Schwartz I. L., Walter R.: *Endocrinology* 87, 730 (1970).
 53. Walter R., Schlank H., Glass J. D., Schwartz I. L., Kerenyi T. D.: *Science* 173, 827 (1971).
 54. Yoshimoto T., Orlowski R. C., Walter R.: *Biochemistry* 16, 2942 (1977).

V. Pliska^a, A. Pařízek^b, and M. Flegel^c (^a Department of Biology, Eidgenössische Technische Hochschule (ETH), Zürich, Switzerland, ^b Department of Obstetrics and Gynaecology, 1st Faculty of Medicine of Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic, ^c Department of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic): **Neurohypophyseal Peptides from Prague and Swedish Laboratories Used as Pharmaceuticals. Part 2: Desmopressin, Terlipressin, Carbetocin – Pharmacology and Clinical Applications**

Licence agreements between the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague (IOCB), and the pharmaceutical company Ferring AB Malmö enabled the Swedish company to produce and commercialize worldwide a number of neurohypophyseal peptides designed at the IOCB. Several of them found therapeutic applications.

dDAVP: 1-deamino-8-D-arginine-vasopressin was designed in one of the IOCB peptide laboratories (M. Zaoral and F. Šorm) in 1967. It displayed an extremely high antidiuretic activity (various tests indicate a 2- to 50-fold increase, as compared to arginine vasopressin) and a very low pressor activity. The peptide (covered by the

U.S. Patent No. 3,497,491, 1970) has been used as a preferred drug in the substitution therapy of the central form of diabetes insipidus (Minirin[®], today as Desmopressin INN). Besides, as later discovered (Mannucci et al. 1977), dDAVP increases the plasma concentration of the blood-clotting factor VIII. This fact extended its clinical use as haemostatics in cases of milder forms of haemophilia A, von Willebrand-Jürgens syndrome and some thrombocyte dysfunctions. Despite of the clinical success of dDAVP, a closer look reveals certain inadequacies in the presently available pharmacological data: several reports declare activity values and the prolongation effect (index of persistence) in very broad ranges.

Triglycyl-8-lysine-vasopressin (Terlipressin), a peptide with lysine vasopressin chain extended at the N-terminal by a triglycine residue, acts mainly as a pro-drug (releasing lysine vasopressin after aminopeptidase splitting at the N^α group). The analogue belongs to the so-called „synthetic hormonogens“; individual peptides carrying various acylating groups were synthesized in the mid-sixties at the IOCB and legally protected by U.S. Patent No. 3,558,590 (1968). It was a part of the licence agreements mentioned above. The activities of triglycyl-8-lysine-vasopressin (both antidiuretic and vasopressor) are about 100 times lower than those of lysine vasopressin, but its persistence is 5 times longer. As such, it is occasionally used in emergency medicine in cases of esophageal (and other gastrointestinal) bleeding, traumatic or septic shock, in cirrhotic patients and patients with portal hypertension. Its use as an early abortion drug was discussed but not pursued.

Carbetocin (deaminocarba¹-2-*O*-methyltyrosin-oxytocin) was synthesized in the laboratory of Karel Jošt at the IOCB before 1971; its synthesis was covered by a Czechoslovak patent (CS-149,028 B1) in June 1973 (at that time, Czechoslovak patent law did not provide for the patentability of substances as such) and first published in a biophysical communication by Frič *et al.*, 1974). As a part of the licence agreement, it was included in the production program of Ferring AB, but marketed later also by several other pharmaceutical companies due to an incomplete patent protection. The peptide is a moderately active uterotonic partial agonist and as such has been utilized in veterinary obstetrics for delivery induction in cows and (multiparous) pigs: its milder and better-controlled uterotonic action was found preferential as compared to oxytocin so far used for these purposes. In the last two decades, carbetocin has been commonly used also in the human obstetrics, especially to prevent the peri- and post-partum haemorrhage, from the maternal side the most frequent and most severe delivery complication. It became a life-saving drug in emergency obstetrics.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: neurohypophysial hormones, oxytocin, vasopressin, deamino-D-arginine-vasopressin, DDAVP, Glypressin, Terlipressin, Carbetocin, Ferring company, peptide drugs

● Pliska V., Pařízek A., Flegel M.: Chem. Listy 116, 101–109 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220101>

O HORMONU MLÁDÍ

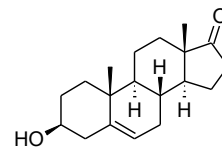
MICHAL JURÁŠEK^a, LUBOSLAV STÁRKA^b
a PAVEL DRAŠAR^a^a Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-
technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
^b Endokrinnologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1
michal.jurasek@gmail.com, drasarp@vscht.cz,
lstarka@endo.cz

Došlo 9.8.21, přijato 25.8.21.

Klíčová slova: DHEA, prasteron, hormon mládí,
well-being, doping● <https://doi.org/10.54779/chl20220115>

Kolem nás je mnoho sekundárních metabolitů, které mají podstatný (ať již pozitivní, nebo negativní) vliv na zdraví lidí, zvířat i rostlin. Tento časopis se jich dotýká ve svých přehledových článcích poměrně často, protože redakce zastává názor, že je nutno bojovat proti vzrůstajícímu (zejména internetovému) tmářství, které tuto oblast zkáluje mnoha bláboly, jako například o „bílé zlu“ cukrů, octa, soli, mouky a tak podobně, a které šíří škodlivé nepravdy jako například, že „bílý destilovaný ocet a vinný ocet (ve kterých je převládající substancí „kyselina acetonová“) ... vzniká kvašením kyselých alkoholických tekutin“ (cit.¹). Tudiž tento článek volně navazuje na články o chutích a barvách^{2,3}, alkaloidech⁴, konopí⁵, kofeinu⁶ apod. proto, aby se veřejnosti dostalo rozumných informací.

Titulní sloučenina zvaná DHEA je chemicky (3 β)-3-hydroxyandrost-5-en-17-on, známý také pod pojmenováními jako 17-chetovis, 17-hormoforin, 3 β -hydroxy- Δ^5 -androst-17-on(e), androst-17-on(e), astenil(e), dehydroepiandrosteron(e) (DHEA, též DHA), deandros, dehydroisoandrosteron(e), diandron(e), EM 760, GL 701, IM 28, immunor, intrarosa, NSC 9896, prasteron(e), psicosteron(e), siscelar plus, *trans*-dehydroandrosteron(e) (TDA), Δ^5 -androst-3 β -ol-17-on(e). DHEA je látkou, která je známá i pod označením „hormon mládí“ (ale i jako „matka hormonů“, „záračná pilulka“, „pramen mládí“, či „protilátka proti stárnutí“⁷) buď sama, nebo v konjugované formě svého esteru s kyselinou sírovou (DHEAS)^{8,9}, jehož hladina je v organismu mnohem vyšší. Hormonem mládí byla nazvána, protože mezi 20. až 30. rokem lidského života začne jeho hladina rapidně klesat¹⁰, a protože jeho suplementace u starších lidí přinesla nejen zlepšení sexuálních funkcí, ale i snížení výskytu depresí a obav, spolu se zlepšením pocitu „well-being“^{11,12}, i když se vyskytly i hlasy, které



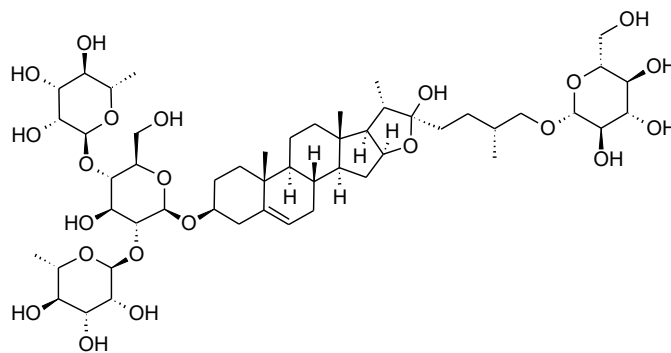
DHEA

s výše popsaným nesouhlasí¹³. Bohužel lze nalézt použití zkratky DHEA i pro jiné sloučeniny, jako např. dokosaheptaenyl-ethanolamin (2-amino-1-hydroxytetrakosa-4,6,8,10,12,14-hexaen-3-on) a zkratku DHA pro dokosaheptaenovou kyselinu, přičemž obě látky rovněž působí na CNS a jsou zkoumány v souvislosti s endokanabinoidy¹⁴.

Není divu, že si u DHEA příroda vybrala konjugovanou formu, protože zatímco DHEA má $\log P = 3,44$, odpovídající sulfát DHEAS má $\log P = 1,94$, z čehož plyne mnohem lepší rozpustnost ve vodě, a tím i biodostupnost¹⁵. Tělo si tento steroid vyrobí z cholesterolu (cholesterol $\rightarrow$ pregnenolon $\rightarrow$ 17-OH-pregnenolon $\rightarrow$ DHEA) a je vylučován v kůře nadledvin¹⁶. Jako steroidní hormon hraje důležitou roli nepřímého meziproductu na metabolické cestě k androgenům a estrogenům. Muži získávají z DHEA 50 % svého testosteronu a ženy 75 % svého estrogenu, u postmenopauzálních žen dokonce 100 % estrogenu. Je zajímavé, že DHEA nevykazuje typické anaboličké vlastnosti, i když je za androgenní anabolikum považován; v této souvislosti stojí za připomínku, že zvýšený poměr kortisolu k DHEAS v séru může být rizikovým faktorem vzniku sarkopenie (typ ztráty svalové hmoty) u starších pacientů s diabetem¹⁷. Existují však i studie, ve kterých je popisováno snižování růstu celkové váhy při obezitě¹⁸. DHEA zlepšuje celkově metabolismus cukrů a dokonce snižuje oxidativní stres způsobený cukrovkou¹⁹. DHEA snižuje LDL, takže se zdá být v této oblasti vhodným sparingpartnerem 24-epibrassinolidu²⁰.

Na základě známých imunomodulačních vlastností DHEA proběhl výzkum jeho použití při autoimunitních onemocněních, jako systémový *lupus erythematoses*²¹. Imunomodulační a protizánětlivé působení DHEA bylo zkoumáno i v procesu léčení astma a dalších chorob, jako Crohnovy nemoci a ulcerózní kolitidy a dalších²². Celkově DHEA podporuje imunitu organismu. Lidé nakažení HIV mají velmi nízké úrovně koncentrace DHEA (cit.²³). Studie ukazují, že muži i ženy nakažení HIV po podání DHEA vykazovali lepší mentální funkce a zvýšení imunity²⁴. DHEA může blokovat reaktivaci choroby, např. u HIV-1.

Snížení koncentrace DHEA (o cca 2 % ročně) vede nakonec k blokování arterií srdce a k infarktu myokardu, zejména u mužů²⁵. Doplnění DHEA snižuje stupeň hyper-



protodioscin

tenze, nebezpečí ischemické choroby srdeční a aterosklerózy. Důkazy pro inverzní vztah mezi hladinou DHEA a kardiovaskulárním rizikem jsou poměrně silné²⁶. Jsou též důkazy o příznivém působení DHEA na hlavní onemocnění plicního oběhu – plicní hypertenzi²⁷. Vyskytly se i práce, které doporučují zkoumání vlivu DHEA na onemocnění COVID-19 (cit.²⁸).

DHEA může zlepšit minerální hustotu kostí u žen i mužů s osteoporózou a osteopenií²⁹. Existuje mnoho studií, které ukazují pozitivní působení DHEA proti „stárnutí“. Již citované snižování koncentrace DHEA s věkem vede k vyšší incidenci vážných nemocí. Udržování úrovně koncentrace DHEA má vliv na celkový obraz pacienta, přispívá i k udržení svalové aktivity a fyzické výkonnosti. Studie na hlodavcích ukázala, že DHEA může prodloužit život až o 50 %, pokusné objekty vypadají mladě a nešediví^{30,31}.

Je pravděpodobné, že po menopauze DHEA může napomáhat udržení koncentrace žádoucích steroidů. Může usnadnit oplodnění, zlepšit sexuální funkce, metabolismus a „well-being“. Suplementace DHEA se ukázala být užitečná při zvládání posttraumatických stavů a zlepšení abstinence u závislostí. Byly nalezeny efekty DHEAS jako anxiolytika a prostředku tlumícího agrese. Celkově DHEA (S) přispívá k podpoře „well-being“ a k pozitivním emocím, případně ke zvýšení pozornosti a celkové pracovní paměti^{32–34}.

Zdá se, že může snížit výskyt rakoviny prsu³⁵ a endometria, nicméně zde se doporučuje administrace DHEA ruku v ruce s lékařem, protože existuje nebezpečí hormon-senzitivních nádorů³⁶, které je však i zlehčováno³⁷.

Bylo prokázáno, že suplementace DHEA u mužů s poruchou erekce způsobila zlepšení erekce na dostatečnou úroveň³⁸. DHEA dokonce zlepšuje kvalitu semene u mužů s poruchou fertility³⁹.

Obecně je DHEA důležitý v endokrinologii a neuroendokrinologii. Mnoho receptorů je aktivováno DHEA, často však na rozdílných úrovních než běžné ligandy. DHEA je důležitým regulačním nástrojem pro řadu mozkových funkcí. Působí jako ligand na některých signálních kanálech⁴⁰ a je mozkovou tkání přímo produkován. Tato zjištění ukazují na širokou škálu aktivit připisovaných DHEA⁴¹. Lékaři a endokrinologové u nás dlouho bojovali

o možnost použití DHEA pro jeho mnohočetnou biologickou aktivitu, leč stále naráželi na překážku, že tato látka i její deriváty (7 α -hydroxy-DHEA, 7 β -hydroxy-DHEA a 7-keto-DHEA) jsou dodnes považovány za anabolické androgenní steroidy, doping⁴² a u nás navíc tato látka nebyla k dispozici⁴³. Dnes se volně prodává, jako doplněk stravy např. v Maďarsku a na Slovensku. I v literatuře se však dočteme o anabolickém působení DHEA při sarkopenii⁴⁴ a anorexii⁴⁵.

Naše sféra „čistého“ sportu se spoléhá na informaci, že ze steroidního glykosidu protodioscinu (z kotvičníku zemního (*Tribulus terrestris*), zřejmě dovezeného jako extrakt z Číny a prodávaného i v lékárnách jako prostředek pro zlepšení naší pohlavní kondice, výkonnosti a zdravou hormonální aktivitu) si DHEA organismus vyrobí sám. Vzhledem ke struktuře o tom lze velmi pochybovat.

Nicméně přípravek Intrarosa, který obsahuje jako léčivou látku DHEA, získal kladné stanovisko EMA v roce 2017 jako léčivý přípravek používaný k léčbě postmenopauzálních žen se středně závažnými až závažnými příznaky vulvální a vaginální atrofie. U žen s vulvální a vaginální atrofií se stěna pochvy a okolní tkáně ztenčí a mohou způsobit příznaky, jako je suchost, podráždění a bolestivost v oblasti genitálií a bolestivý pohlavní styk. Bylo prokázáno, že přípravek Intrarosa zlepšuje strukturu vaginálních tkání a má mírný tlumící účinek na bolest při pohlavním styku a má přijatelný bezpečnostní profil⁴⁶. Používá se jako vaginální kulička a u nás je na lékařský předpis. SÚKL o jeho dostupnosti v ČR nemá informace⁴⁷.

V české „šedé“ literatuře se traduje názor, že se DHEA přetváří v organismu na testosteron, což potvrzovali muži, kteří delší dobu skoro tajně užívali DHEA či DHEAS. Byli to většinou experimentátoři, kteří příznivě hodnotili libido a erekci, ale také vzrůst tělesné síly a mentálních schopností, včetně zlepšení paměti⁴³; avšak nadbytek mužských pohlavních hormonů se dává i do souvislosti s některými zhoubnými nemocemi, například s nádory prostaty u mužů⁴⁸. EMA však uvádí, že nejběžnějším vedlejším účinkem přípravku Intrarosa (který může postihnout až 1 z 10 žen) je vaginální výtok. Přípravek Intrarosa se nesmí používat u pacientů s následujícími stavy: krvácení z pohlavních orgánů, u nichž nebyla diagnostikována příčina, diagnóza nebo podezření na rakovinu prsu nebo

rakovinu závislou na estrogenu, předchozí rakovina prsu, neléčená hyperplazie endometria (zesílení děložní sliznice), akutní (krátkodobé) onemocnění jater, předchozí onemocnění jater, kde jsou jaterní funkční testy stále abnormální, předchozí nebo současný žilní tromboembolismus (tvorba krevních sraženin v žilách), trombofilní poruchy (abnormální srážení krve), aktivní nebo nedávné arteriální tromboembolické onemocnění (způsobené krevními sraženinami v tepnách), porfyrie (neschopnost rozkládat chemické látky zvané porfyriny).

S látkami, jako je DHEA, se setkáváme ve vědeckém bádání, sportovní medicíně, ale i na trhu šedé ekonomiky⁴⁹. Je proto užitečné o nich vědět najmě to, co udává současná odborná literatura.

LITERATURA

1. <https://www.zdravinadlani.cz/nase-strava/ocet>, staženo 22. 6. 2021.
2. Drašar P.: Chem. Listy 110, 276 (2016).
3. Červenčík K., Bírošová L., Žemlička L.: Chem. Listy 114, 437 (2020).
4. Nesměrák K., Kudláček K., Kozlík P., Štícha M., Vašíčková P., Babica J.: Chem. Listy 114, 52 (2020).
5. Kaczorová D., Béres T., Čavar Zeljković S., Bjelková M., Kuchař M., Tarkowski P.: Chem. Listy 114, 277 (2020).
6. Kobetičová K.: Chem. Listy 114, 614 (2021).
7. Sahu P., Gidwani B., Dhongade H. J.: Steroids 153, 108507 (2020).
8. Chehab O., Ouertani M., Chaieb K., Haoual F., Mahdouani K.: C. R. Biol. 330, 755 (2007).
9. Stárka I.: Interní Med. 14, 257 (2012).
10. Matsumoto A. M.: J. Gerontol. Ser. A 57, 76 (2002).
11. Verrilli L., Esposito-Smith M., Williams M., v knize: *Challenges in Older Women's Health*. (Brown H. W., Williams M., Schrager S., ed.), str. 185. Springer, Cham 2021.
12. Li J., Zhang Q., Wang Q., Zhou L., Wan X., Zeng X.: Sleep Biol. Rhythms 19, 155 (2021).
13. Urbanski H. F., v knize: *Assessments, Treatments and Modeling in Aging and Neurological Disease* (Martin C. R., Preedy V. R., Rajendram R., ed.), str. 269. Academic Press, London 2021.
14. Muscaritoli M.: Front. Nutr. 8, 97 (2021).
15. ACD/Labs: Percepta, Toronto, release 2020.2.0 (2021).
16. Klinge C. M., Clark B. J., Prough R. A.: Vitam. Horm. (London, U. K.) 108, 1 (2018).
17. Yanagita I. a 19 spoluautorů: J. Endocr. Soc. 3, 801 (2019).
18. Wu H. Q., Masset-Brown J., Tweedie D. J., Milewich L., Frenkel R. A., Martin-Wixtrom C., Estabrook R. W., Milewich L.: Cancer Res. 49, 2337 (1989).
19. Brignardello E., Runzo C., Aragno M., Catalano M. G., Cassader M., Perin P. C., Boccuzzi G.: Diab. Care 30, 2922 (2007).
20. Khripach V., Altsivanovich K., Zhabinskii V., Samusevich M.: US6998397B2 (2004).
21. Van Vollenhoven R. F., Park J. L., Genovese M. C., West J. P., McGuire J. L.: Lupus 8, 181 (1999).
22. De la Torre B., Hedman M., Befrits R.: Clin. Exp. Rheumatol. 16, 579 (1998).
23. Centurelli M. A., Abate M. A.: Ann. Pharmacother. 31, 639 (1997).
24. Mulder J. W., Jos Frissen P. H., Krijnen P., Endert E., De Wolf F., Goudsmit J., Masterson J. G., Lange J. M. A.: J. Infect. Dis. 165, 413 (1992).
25. Jia X. M. a 18 spoluautorů: J. Clin. Endocrinol. Metab. 105, dgaa518 (2020).
26. Samaras N., Samaras D., Frangos E., Forster A., Philippe J.: Rejuvenation Res. 16, 285 (2013).
27. Savineau J. P., Marthan R., de la Roque E. D.: Biochem. Pharmacol. 85, 718 (2013).
28. Cherniske S.: Academia Letters 2021, July, Article 1787.
29. Huang K., Cai H.-L., Bao J.-P., Wu L.-D.: Ageing Res. Rev. 62, 101132 (2020).
30. <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/toc/17496632/1995/774/1>, staženo 22. 6. 2021.
31. Barnhart K. T., Freeman E., Grisso J. A.: J. Clin. Endocrinol. Metab. 84, 3896 (1999).
32. do Vale S., Escera C.: Vitam. Horm. (London, U. K.) 108, 413 (2018).
33. Wemm S., Koone T., Blough E., Mewaldt S., Bardi M.: Biol. Psychol. 85, 53 (2010).
34. Barrett-Connor E., Edelstein S. L.: J. Am. Geriatr. Soc. 42, 420 (1994).
35. Li S., Yan X., Bélanger A., Labrie F.: Breast Cancer Res. Treat. 29, 20 (1993).
36. Labrie F., Luu-The V., Labrie C., Bélanger A., Simard J., Lin S.-X., Pelletier G.: Endocr. Rev. 24, 152 (2003).
37. Labrie F., Luu-The V., Bélanger A., Lin S. X., Simard J., Pelletier G., Labrie C.: J. Endocrinol. 187, 169 (2005).
38. Reiter W. J., Pycha A., Schatzl G., Pokorny A., Gruber D. M., Huber J. C., Marberger M.: Urology 53, 590 (1999).
39. El-Sakka A. I., ve sborníku *DHEA in Human Health and Aging Conference*, (Watson, Ronald Ross, ed.), str. 351. CRC Press, Boca Raton 2012.
40. Hill M., Dušková M., Stárka L.: J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 145, 293 (2015).
41. Clark B. J., Prough R. A., Klinge C. M.: Vitam. Horm. (London, U. K.) 108, 29 (2018).
42. Světový antidopingový kodex, Mezinárodní standard, Seznam zakázaných látek 2021, World anti-doping agency a Antidopingový výbor ČR, Praha 2021.
43. Šonka J.: Vesmír 75, 305 (1996).
44. Foss R., Casaburi R., Storer T. W., Bhasin S.: Baillière's Clin. Endocrinol. Metab. 12, 365 (1998).
45. Bloch M., Ish-Shalom S., Greenman Y., Klein E., Latzer Y.: Psychiatry Res. 200, 544 (2012).
46. https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/intrarosa-epar-summary-public_cs.pdf, staženo 21. 6. 2021.
47. <https://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?>

- code=0222763&tab=available, staženo 14. 7. 2021.
48. https://www.idnes.cz/onadnes/zdravi/je-hormon-vecneho-mladi-bezpecny.A050121_202043_zdravi_pol, staženo 21. 6. 2021.
49. <https://www.vitaminnatural.com/cs/dhea-7keto-105>, staženo 21. 6. 2021.

M. Jurášek^a, L. Stárka^b, and P. Drašar^a (^a *Institute of Natural Chemistry, University of Chemical Technology, Prague*, ^b *Institute of Endocrinology, Prague*): **About the Hormone of Youth**

DHEA, prasterone, (3 β)-3-hydroxyandrost-5-en-17-one, is a natural secondary metabolite that is, mainly in its sulphated form, present in young humans. After the age of 30 its concentration gradually lowers. When it is supplemented to the elderly people, their well-being and sexual functions grow up together with mental capacity. Alternatively, it may help to cure number of diseases. However, as it is considered to be anabolic androgen, i.e., doping, its use is in the Czech Republic limited on the medical prescription only.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: DHEA, prasterone, hormone of youth, well-being, doping

- Jurášek M., Stárka L., Drašar P.: Chem. Listy 116, 115–118 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220115>

O ZÁZRÁKU PŘÍRODY Z ŘEPKOVÉHO PYLU

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-
technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
drasarp@vscht.cz

Došlo 25.5.21, přijato 15.11.21.

Klíčová slova: brassinosteroid, brassinolid, rostlinný
regulátor, bioracionální agrochemikálie

● <https://doi.org/10.54779/chl20220223>

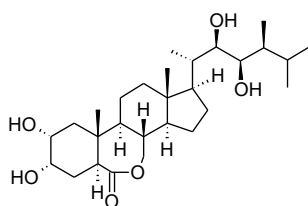
Brassinosteroidy (brassinolidy, BS) jsou specifické rostlinné polyhydroxylované deriváty 5 α -cholestanu, strukturně podobné živočišným steroidním hormonům odvozeným od cholesterolu, polyhydroxylovaným žlučovým kyselinám¹ a ekdysteroidům hmyzu². Vyznačují se *cis*-diolem na kruhu A v poloze na C-2 a C-3, hydroxylovaným bočním řetězcem, „all-*trans*“ anelací a oxidací na kruhu B. Kruh B obsahuje buď sedmičlenný lakton (např. brassinolid) nebo šestičlenný keton (např. kastasteron). BS se nacházejí ve velmi malých koncentracích prakticky ve všech částech rostlin, zejména pak v pylu, semenech, listech a mladých vegetativních tkáních v celé rostlinné říši³. První biologicky aktivní rostlinný BS byl izolován⁴ v množství 4 mg ze 40 kg pylu brukve řepky *Brassica napus* v roce 1979. Podstata vzešla ze starobylé praxe, kdy

pěstitelé zalévali svoje kultury zálivkou obsahující rostlinný pyl ku zlepšení pěstitelských výsledků. Během doby bylo zjištěno, že se podobné látky ze skupiny těchto polyhydroxysteroidů nacházejí prakticky ve všech rostlinách a že skupina obsahuje více než stovku příbuzných látek. Důkladným studiem, a to i na polních pokusech, bylo zjištěno, že tyto látky v nepatrných koncentracích (téměř „homeopatických“) mají významný a pozitivní vliv na úrodu, ať již tím, že zlepšují růst, výtěžnost, ale i odolnost rostlin.

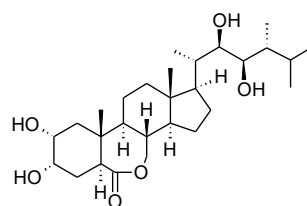
Výzkum BS vždy omezovala jejich malá dostupnost v přírodě a syntetická obtížnost, syntézu v provozním měřítku se však podařilo vyřešit ať již využitím buněčných kultur⁵ nebo částečnou syntézou⁶. Zájem o tuto skupinu látek stále roste⁷. Web of Science na dotaz „brassinolide“ odpovídá 1309 a „brassinosteroid“ 4566 citacemi. Když Pavel Kočovský začátkem 80. let minulého století, coby „mladý voják“, navrhl šéfovi, že by bylo užitečné takové látky syntetizovat, byl stroze odmítnut.

Exogenní aplikace BS na rostliny v nanomolárních až mikromolárních koncentracích má široké spektrum růstových odpovědí, jako je prodloužení stonku, inhibice růstu kořenů, podpora dělení buněk a zvýšení odolnosti proti stresu způsobené změnami v enzymové aktivitě a genové expresi, nicméně v některých případech záleží na koncentraci a druhu rostliny; nízké koncentrace naopak růst kořenů mohou podporovat.

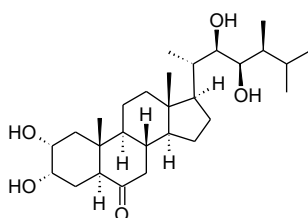
U rostlin BS zvyšují syntézu dalších fytohormonů, podporují individuální expanzi buněk a proteinovou syntézu, aktivují fotosyntézu pomocí klíčových enzymatických reakcí, a tím zvyšují růst, vývoj a stabilitu rostlin.



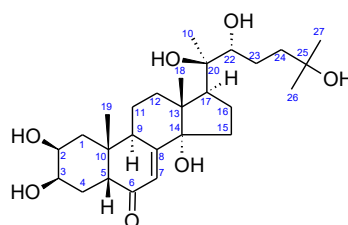
brassinolid



24-epibrassinolid



kastasteron



20-hydroxyekdyson s číslováním uhlíků

V zemědělství se aplikují v extrémně nízkých, téměř „homeopatických“ dávkách (např. 5–50 mg/ha), jsou ekologicky bezpečné, netoxické ve vztahu k lidem, savcům, užitečnému hmyzu a rybám.

V posledních letech poskytla biochemická a genetická analýza přesvědčivé důkazy o zásadní roli BS ve vývoji rostlin. Jako biologicky aktivní sloučenina pro použití v zemědělství byl první brassinosteroid, 24-epibrassinolid, registrován⁸ v EU až v roce 2021 s tím, že „*S ohledem na jedno či více reprezentativních použití alespoň jednoho přípravku na ochranu rostlin obsahujícího dotčenou účinnou látku, a zvláště pak použití, jež byla zkoumána a podrobně popsána ve zprávě o přezkumu, bylo zjištěno, že kritéria pro schválení stanovená v článku 4 nařízení (ES) č. 1107/2009 jsou splněna. Komise se dále domnívá, že 24-epibrassinolid je účinnou látkou představující nízké riziko ... Proto ... účinná látka 24-epibrassinolid ... se schvaluje*“. V ČR povolení pro použití v zemědělství BS zatím nemají, protože jsou posuzovány jako hnojiva a nepodařilo se prokázat, že by měly účinné vlastnosti této skupiny látek, přestože, podle zákonných ustanovení bylo prokázáno, že koncentrace arsenu, kadmia, chromu, rtuti a olova v předložených vzorcích byly „nižší“ než požadované limity, což je vcelku logické, protože v BS žádné těžké kovy nejsou.

Fakt, že po aplikaci BS rostliny odolávají suchu, přílišné vlhkosti, zasolení půdy a že významně zvyšují úrodu zemědělsky i lesnický důležitých rostlin, nenašel sluchu ani na Ministerstvu zemědělství ČR. Použití 24-epibrassinolidu v zemědělství je však dnes již povoleno v řadě států, mj. i v USA⁹. V Bělorusku, kde se výrobce setkal s podobným úředním postupem jako v ČR, byla tato látka, v souladu s příslušnými předpisy, registrována nakonec i jako hnojivo¹⁰.

Přípravky s BS lze považovat za reprezentativní zastupce nové generace bioracionálních agrochemikálií, které nemají žádný vliv na životní prostředí, působí přirozenými dávkami a přirozeným způsobem¹¹. Tradičně se účastní potravinových řetězců lidí a savců, neb jejich metabolická cesta je pro ně evolučně obvyklá. Obsah BS

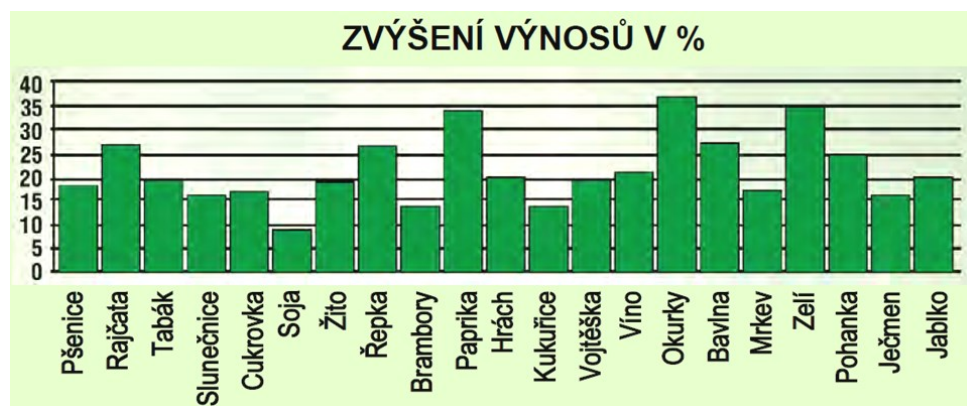
v rostlinách se zvyšuje během prvních 12 až 14 dnů po ošetření, pak během následujících 10 dnů se přípravek zcela metabolizuje. Hlavními metabolity jsou steroidní glykosidy. Rostliny musí být ošetřeny ve vhodné fázi vývoje; dobré výsledky poskytuje aplikace u mladých rostlin. K dispozici jsou dva režimy použití: namáčení semen, řízků a postřik listů. Vcelku lze shrnout dlouhodobé výsledky při pěstování rostlin, BS jsou zodpovědné zejména za:

- zvýšení výtěžnosti (obr. 1), výnosů a zlepšení kvality produkce (komerčního vzhladu, ornamentální hodnoty květů), tvorby květového stonku, posílení stability sazenic, růstu kořenů, zrychlení zakořeňování řízků a zlepšení jejich kvality, zlepšení využití dusíku, zvýšení výnosů semen a hlíz, obsahu proteinů, lepku, esenciálních aminokyselin apod., olejů, cukrů a vitaminů, kvality vlákna, počtu ročních výhonků a fotosyntetické kapacity,
- zrychlení a zlepšení klíčivosti, formování uniformních stonků, snížení tvorby vadných rostlin, zkrácení doby vegetace,
- omezení poškození způsobených nemocemi, houbami a hnilobou,
- zvýšení efektivity hnojení, snížení akumulace nitrátů, snížení poškození pesticidy,
- zvýšení odolnosti rostlin k suchu, mrazu a přebytku vody, zasolení.

V podmínkách sucha může být aplikace BS kriticky důležitá pro produktivitu. Příkladem může být např. použití prostředku s 24-epibrassinolidem EPIN v Moldavsku v roce 2007 (viz obr. 2).

Popularitu prostředků s BS pro zemědělství i zahrádkáře lze snadno vidět, pokud do internetového vyhledávače zadáme heslo „эпин“ (epin v azbuce).

BS mají řadu biologických vlastností a účinků i mimo hájemství rostlin. Fakt, že BS pozitivně ovlivňují lidské zdraví byl mnohokrát zdokumentován^{12–14}, a to i v případě, že přicházejí z běžné potravy¹⁵. V zemích bývalého SSSR je 24-epibrassinolid dokonce registrovaným prostředkem jako „bylinný stimulant pro elitní sportovce“ a prostředek



Obr. 1. Zvýšení výnosů některých plodin po aplikaci BS (cit.¹⁶)



Obr. 2. Zvýšení úrody pšenice za katastrofálního sucha v Moldavsku v roce 2007 po ošetření BS (cit.¹⁶)

pro navození „well being“¹⁶ s tím, že není antidopingovou agenturou považován za prostředek dopingů¹⁷; je široce distribuován pod obchodním názvem Фитонол (Fitonol)¹⁸ s obsahem 25–40 µg v kapsli (obr. 3). Doporučuje se aplikace max. 75 µg denně.

Americký patent přináší objev používající BS k navození anabolicky příznivého stavu pro růst, opravu a údržbu kosterního svalstva a kůže¹⁹ v koncentracích již od 0,01 µM a dávkách od 0,1 mg kg⁻¹ týdně. Bylo též patentováno, že BS mohou být užitečné v regulaci cholesterolu tím, že snižují hodnoty LDL a zvyšují úroveň HDL (cit.²⁰). Japonský patent nárokuje preventivní účinek BS proti arterioskleróze v koncentraci 20 µM (cit.²¹). Podobně jako strukturně příbuzné ekdysteroidy² působí BS i jako anabolika a adaptogeny^{22,23} a přirozeně mají vliv na vývoj hmyzu¹⁴. Prokázána byla i velmi pozitivní role BS na rybí chovu^{14,24}.

K výše citovaným vlastnostem byla dále nalezena antivirová aktivita těchto sloučenin proti RNA a DNA virům. Některé ze sloučenin vykazovaly při testování proti viru Junin (JV) (*Arenaviridae*) 10 až 18krát vyšší index selektivity (SI) než ribavirin, širokospektrální antivirová sloučenina; dobrá antivirová aktivita proti viru spalniček (MV) (*Paramyxoviridae*), s hodnotami SI také vyššími než ribavirin používaný jako referenční léčivo, a podobná nebo nižší aktivita proti *herpes simplex* typu 1 a 2 (HSV-1 a HSV-2) (*Herpesviridae*) ve srovnání s foscarnetem nebo acyklovirem²⁵. Bylo zjištěno, že mohou mít vliv na odvrá-



Obr. 3. Fitonol (cit.¹⁸)

cení mnohočetné lékové rezistence²⁶, např. u lidské T lymfoblastoidní buněčné linie CCRF-VCR1,000.

Je široce popsáno, že BS mají vhodné terapeutické vlastnosti proti rozvoji rakoviny a ukazují potenciál pro vývoj nových protinádorových léků^{27,28}. BS s fluorovaným postranním řetězcem však mají protirakovinnou aktivitu zanedbatelnou²⁹, podobně jako deriváty fluorované na skeletu³⁰. Nefluorované BS vykazaly, v mikromolárních koncentracích, schopnost inhibovat růst několika lidských rakovinných buněčných linií, aniž by ovlivňovaly růst buněk normálních²⁷. Zejména pak sám brassinolid byl schopen indukovat apoptózu v prostatické buněčné linii PC-3 nezávislé na androgenech v koncentracích již od 20 µM, a proto byl navržen k prevenci nebo léčbě pokročilé rakoviny prostaty³¹ a lékově rezistentních malobuněčných karcinomů plic³². 24-Epibrassinolid mění signální osu PI3K/MAPK aktivací apoptózy zprostředkované mitochondriemi navozenou Foxo3 v buňkách rakoviny tlustého střeva³³. BS prokázaly schopnost navodit apoptózu rakoviny prostaty³⁴ a prsu³⁵. Existují náznaky, že BS lze použít při léčbě stavů souvisejících s androgeny, jako je benigní hyperplazie prostaty a androgenní alopecie³⁶.

K zajímavým zjištěním patří to, že BS jsou spojovány se schopností navodit rezistenci proti virům³⁷, bakteriím, řasovkám (oomycety), ale i houbám a plísním^{12,38}. BS jsou považovány za vážné kandidáty na prostředky s antivirovou aktivitou a při léčení pacientů trpících herpetickými a virovými chorobami³⁹, včetně HIV⁴⁰.

Bylo zjištěno pomocí inhibice inkorporace ⁸⁶Rb⁺ do lidských erytrocytů, že BS inhibují Na⁺K⁺ dependentní ATPasu, avšak v menší míře než digitoxin⁴¹. Bylo též popsáno, že BS s fluorovaným postranním řetězcem vykazují GABA_A aktivitu srovnatelnou s endogenním neurosteroidem allopregnanolonem²⁹.

Bylo popsáno, že BS vykazují antiglykemickou aktivitu u diabetických potkanů, zlepšují hladinu RBC, WBC, krevních destiček, hladinu hemoglobinu a snižují poškození buněk u chorob, jako jsou zánětlivé onemocnění střev, alergické reakce a leukémie nebo myeloproliferativní neoplazma u lidí⁴².

Přinášíme tento příspěvek jako učební text popisující různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek^{43–45} i proto, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, polopravd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Je náblední, že zkoumání přírodních látek, jakožto látek z obnovitelných zdrojů, je jednou z cest, jak laciným a efektivním způsobem přispět ku všeobecnému prospěchu^{46,47}. Pokud se tak činí s přírodní látkou, která má navíc zanedbatelnou toxicitu, téměř nulové kontraindikace a která je lidstvem používána po tisíce let, je jen dobře.

Sekundární metabolity jako BS z obnovitelných zdrojů mající širokou biologickou účinnost a minimální toxicitu (LD₅₀ pro 24-epibrassinolid je vyšší¹⁴ než 5000 mg kg⁻¹) jsou studnicí možností pro budoucí využití v humánní, zemědělské i lesnické praxi. Brassinosteroidy jsou první skupinou steroidních hormonálních sloučenin izolovaných z rostlin a působících v rostlinách. Mezi četnými fyziologickými účinky jsou stimulace růstu a adaptogenní aktivita

ovlivněné BS obzvláště pozoruhodné. V dnešní době existuje mnoho důkazů o tom, že BS mají podobné typy aktivity i mimo rostlinnou říši ba i v lidské bioregulaci⁴⁸ a k takové osvětě chtěl přispět i tento článek.

LITERATURA

1. Vecka M., Žák A., Staňková B., Fojtíková Š., Tomášová P., Kutová S.: *Chem. Listy* 113, 82 (2019).
2. Jurášek M., Opletal L., Harmatha J., Sláma K., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 595 (2021).
3. Bajguz A., Tretyn A.: *Phytochemistry* 62, 1027 (2003).
4. Grove M. D., Spencer G. F., Rohwedder W. K., Mandava N., Worley J. F., Warthen J. D., Steffens G. L.: *Nature* 281, 216 (1979).
5. Saimoto H., Otsuka M., Yamamoto M., Kawashima M., Fujioka S., Sakurai A., Yokota T., Shono K.: US5084388A (1989).
6. Khripach V. A.: *Pure Appl. Chem.* 62, 1319 (1990).
7. Mohanta T. K., Mohanta Y. K., Yadav D., Hashem A., Abd Allah E. F., Al-Harrasi A.: *Plants-Basel* 9, 1248 (2020).
8. Provděcí nařízení komise (EU) 2021/427 ze dne 10. března 2021.
9. US EPA: Reg. No. 92983-2 (2019).
10. Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus, Main State Inspection for seed, breeding, quarantine and plant protection: Certificate No. 4390; Number of state registration 10-0022 (2020).
11. Ali B.: *Scientia Horticulturae* 225, 15 (2017).
12. Kohli S. K., Bhardwaj A., Bhardwaj V., Sharma A., Kalia N., Landi M., Bhardwaj R.: *Biomolecules* 10, 572 (2020).
13. Asami T.: *Kagaku Kogyo* 57, 672 (2006).
14. Zhabinskii V. N., Khripach N. B., Khripach V. A.: *Steroids* 97, 87 (2015).
15. Di Gioia F., Petropoulos S. A.: *Adv. Food Nutr. Res.* 90, 351 (2019).
16. Свидетельство о государственной регистрации ВУ.70.07.01.003.Е.005463.05.11, 27.05.2011.
17. Национальное антидопинговое агентство Республики Беларусь: О разрешении применения эпибрассинолида в спорте № 79, 13.05.2008.
18. https://bizon.by/index.php?_route_=fitonol_100, staženo 16. 4. 2021.
19. Raskin I., Esposito D., Komarnytsky S., Rathinasabapathy T., Castillo L. R.: US 20140128357 (2014).
20. Khripach V., Altsivanovich K., Zhabinskii V., Samusevich M.: US6998397B2 (2004).
21. Ogawa K., Nakano Y., Seto H., Asami T., Tsujimoto M.: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 2009046443* (2009).
22. Khripach V. A. a 14 spoluautorů: *Eurasian (Pat. Doc.) EA 17344 B1* 20121130 (2012).
23. Esposito D., Komarnytsky S., Shapses S., Raskin I.: *FASEB J.* 25, 3708 (2011).
24. Vitvitskaya L. V., Nikonov S. I., Tikhomirov A. M., Zagriichuk V. P., Abtakh B., Vorobeve E. I.: *Dokl. Akad. Nauk* 352, 842 (1997).
25. Wachsmann M. B., Ramirez J. A., Talarico L. B., Galagovsky L. R., Coto C. E.: *Curr. Med. Chem.: Anti-Infect. Agents* 3, 163 (2004).
26. Xian L., Li Y., Liu R., Cao Q., Sun J.: *Yaoxue Xuebao* 40, 117 (2005).
27. Maliková J., Swaczynová J., Kolář Z., Strnad M.: *Phytochemistry* 69, 418 (2008).
28. Gupta A., Kumar B. S., Negi A. S.: *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 137, 242 (2013).
29. Eignerová B., Slavíková B., Buděšínský M., Dračinský M., Klepetářova B., Šťastná E., Kotora M.: *J. Med. Chem.* 52, 5753 (2009).
30. Slavíková B., Kohout L., Buděšínský M., Swaczynová J., Kasal A.: *J. Med. Chem.* 51, 3979 (2008).
31. Wu Y.-D., Lou Y.-J.: *Pharmazie* 62, 392 (2007).
32. Sadava D., Kane S. E.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 493, 783 (2017).
33. Coskun D., Obakan P., Coker-Gurkan A., Palavan-Unsal N., Arisan E. D.: *Exp. Cell Res.* 338, 10 (2015).
34. Steigerová J., Rárová L., Oklešťková J., Křížová K., Levková M., Šváchová M., Kolář Z., Strnad M.: *Food Chem. Toxicol.* 50, 4068 (2012).
35. Steigerová J., Oklešťková J., Levková M., Rárová L., Kolář Z., Strnad M.: *Chem.-Biol. Interact.* 188, 487 (2010).
36. Kitron A., Pergamentz R.: US8530435B2 (2011).
37. Calil I. P., Fontes E. P.: *Ann. Bot.* 119, 711 (2016).
38. Bajguz A., Hayat S.: *Plant Physiol. Biochem.* 47, 1 (2009).
39. Castilla V., Ramirez J., Coto C. E.: *Curr. Med. Chem.* 17, 1858 (2010).
40. Samusevich M., Khripach V., Altsivanovich K., Zhabinski V.: WO2006023073A1 (2004).
41. Stárka L., Schreiber V., Kohout L.: *Sborník Lékařský* 98, 21 (1997).
42. Athithan V., Ramesh R., Srikumar K.: *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 10, 162 (2018).
43. Bejček J., Spiwok W., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
44. Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 363 (2021).
45. Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 458 (2021).
46. Kaczorova D., Beres T., Zeljkovic S. C., Bjelkova M., Kuchar M., Tarkowski A. P.: *Chem. Listy* 114, 277 (2020).
47. Rádl S.: *Chem. Listy* 115, 246 (2021).
48. Olkkonen V. M., Béaslas O., Nissilä E.: *Biomolecules* 2, 76 (2012).

M. Jurášek and P. Drašar (*Department of Chemistry of Natural Products, University of Chemistry and Technology, Prague*): **About the Miracle of Nature from Rapeseed Pollen**

Secondary metabolites such as brassinosteroids (BS) from renewable sources having broad biological efficacy and minimal toxicity represent a rich well of possibilities

for future use in human, agricultural and forestry practices. BS are the first group of steroid hormone compounds isolated from plants and acting in plants. Among the numerous physiological effects, the growth stimulation and adaptive activity affected by BS are particularly noteworthy. Nowadays, there is much evidence that BS have similar types of activity outside the plant kingdom and even in human bioregulation.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: brassinosteroid, brassinolide, plant growth regulators, bio-based agrochemicals

● Jurášek M., Drašar P.: Chem. Listy 116, 223–227 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220223>

VITAMIN E – ZNÁMÝ ČI NEZNÁMÝ?

JAKUB FIŠNAR a ZUZANA RÉBLOVÁ

Ústav analýzy potravin a výživy, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6
zuzana.reblova@vscht.cz

Došlo 15.3.21, přepracováno 8.12.21, přijato 10.12.21.

Klíčová slova: vitamin E, tokoferoly, tokotrienoly, toko-
monoenoly, antioxidanty, biologická aktivita

● <https://doi.org/10.54779/chl20220287>

Obsah

1. Úvod
2. Sloučeniny vykazující aktivitu vitaminu E
3. Význam vitaminu E pro člověka
 - 3.1. Antioxidační působení vitaminu E
 - 3.2. Jiné než antioxidační působení vitaminu E
4. Závěr

1. Úvod

Poprvé byl vitamin E popsán v roce 1922 Evansem a Bishopovou jako antisterilní faktor nezbytný pro správné proběhnutí reprodukčního cyklu krys¹. V roce 1931 pak byla popsána antioxidační funkce tokoferolů², která je v současné době (většinou vědecké komunity) považována za hlavní projev biologické aktivity vitaminu E (cit.^{3–5}). Tento vitamin je přitom často označován za nejvýznamnější lipofilní antioxidant, který v membránách buněk a lipoproteinech krevního séra ochraňuje mastné kyseliny před oxidací³. V posledních cca 30 letech se navíc ukázalo, že dostatečný příjem vitaminu E (spolu s dalšími antioxidanty) může hrát důležitou roli v prevenci vzniku a rozvoje kardiovaskulárních chorob a některých dalších onemocnění^{1,6}. Tato skutečnost podnítila širší výzkum tokoferolů^{6–21}, v rámci něhož byly objeveny zejména některé další sloučeniny s aktivitou vitaminu E (cit.^{11–21}), a také některé doposud nepopsané mechanismy působení tohoto vitaminu *in vivo*^{1,6,7}. Následující text proto shrnuje aktuální pohled na vitamin E, a to především právě na sloučeniny vykazující aktivitu tohoto vitaminu a mechanismy jeho působení *in vivo*.

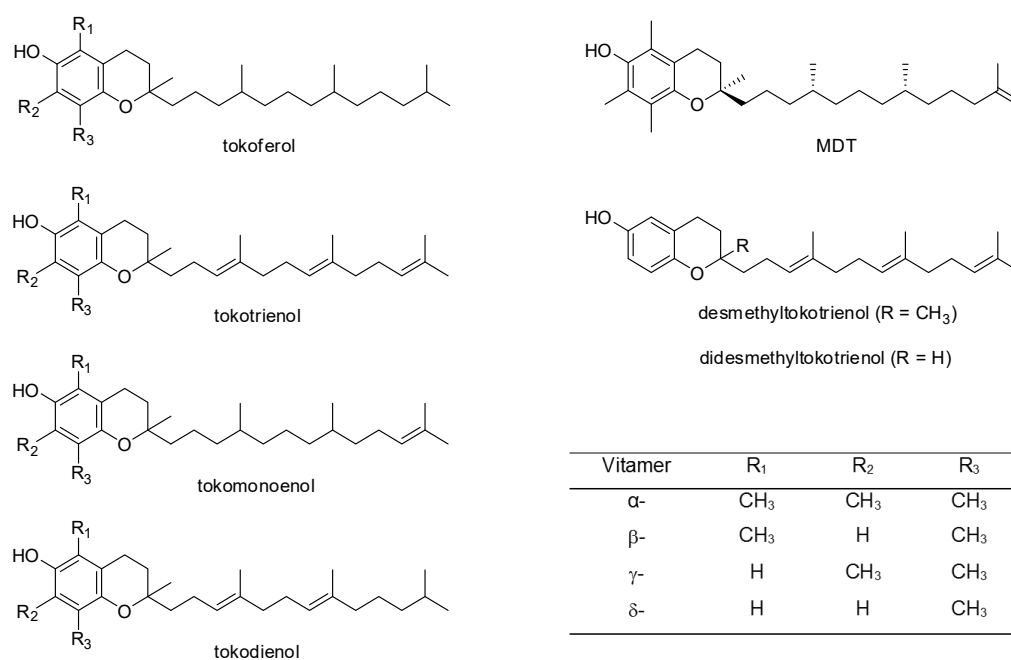
2. Sloučeniny vykazující aktivitu vitaminu E

Podle klasického pojetí je vitamin E tvořen čtyřmi tokoferoly a čtyřmi tokotrienoly, které jsou společně označovány jako tokochromanoly³. Přibližně od konce 20. století jsou však objevovány další strukturně podobné látky, přičemž u některých z nich již byla experimentálně prokázána biologická aktivita vitaminu E (cit.¹⁰). Mezi tyto nové sloučeniny patří např. tokomonoenoly^{11–15}, desmethyl- a didesmethyltokotrienoly^{16,17} a tokodienoly¹⁸ (viz obr. 1).

Z nově objevených sloučenin byla zatím největší pozornost věnována studiu tokomonoenolů, které byly dokonce detekovány v lidské plazmě¹⁰, a které někteří autoři považují za třetí skupinu sloučenin s aktivitou vitaminu E (cit.¹⁴). Z potravinových zdrojů byly přitom tokomonoenoly nalezeny zejména v palmovém^{14,15}, dýňovém¹¹ a slunečnicovém oleji²² a v kiwi¹³. Zvláštním typem α -tokomonoenolu je pak MDT (marine-derived tocopherol), který byl poprvé popsán v jikrách lososa¹⁹ a který pravděpodobně usnadňuje adaptaci mořských ryb na nízkou teplotu²¹.

Jednotlivé tokochromanoly vykazují různou míru biologické aktivity vitaminu E (cit.^{3,23}) (viz tab. I), a to především v závislosti na své chemické struktuře²³:

- a) Důležitou roli hrají methylové skupiny (s kladným indukčním efektem) umístěné v pozici *ortho* k hydroxylové skupině na chromanovém jádře, které usnadňují odštěpení vodíkového atomu z hydroxylové skupiny, stabilizují vzniklý tokoferoxylový radikál a umožňují reakci tohoto radikálu s peroxylovými radikály. α -Tokoferol má přitom methylové skupiny v obou *ortho* polohách k hydroxylové skupině, β -tokoferol a γ -tokoferol pouze v jedné a δ -tokoferol v žádné.
- b) Stabilitu tokoferoxylového radikálu zvyšuje kyslíkový atom heterocyklu umístěný v *para* poloze k hydroxylové skupině. Kyslíkový orbital p obsahující volný elektronový pár je téměř kolmý na rovinu aromatického jádra a překrývá se s poloobsazenými molekulovými orbitály radikálu. Čím je tento překryv orbitalů větší, tím je tokoferoxylový radikál stabilnější prostřednictvím delokalizace elektronů. Míru překryvu orbitalů charakterizuje tzv. dihedrální úhel, jehož hodnoty jsou pro jednotlivé tokoferoly následující: α -tokoferol 21°, β -tokoferol 21,4°, γ -tokoferol 18,9° a δ -tokoferol 20,2°.
- c) Míra lipofility je důležitá pro rozpustnost tokoferolů (a tokotrienolů) *in vivo* v lipidovém prostředí, jako jsou např. buněčné membrány nebo lipoproteinové částice. Lipofilitu tokoferolů (a tokotrienolů) ovlivňují methylové skupiny na chromanovém jádře a postranní řetězec připojený na chromanové jádro v poloze C2. Čím je tokochromanol lipofilnější, tím má větší aktivi-



Obr. 1. Chemická struktura jednotlivých vitamerů vitamínu E a některých příbuzných sloučenin (MDT – marine-derived tocopherol)

Tabulka I

Relativní biologická aktivita různých sloučenin s aktivitou vitamínu E (cit.^{5,10})

Název	Relativní biologická aktivita [%]
α -Tokoferol	100
β -Tokoferol	50
γ -Tokoferol	10
δ -Tokoferol	3
α -Tokotrienol	50
β -Tokotrienol	5
γ -Tokotrienol	neznámá
δ -Tokotrienol	neznámá
MDT ^a	49
α -Tokomonoenol	30

^a Marine-derived tocopherol

tu *in vivo*. α -Tokoferol má přitom tři methylové skupiny a nasycený postranní řetězec a vykazuje tudíž nejvyšší biologickou aktivitu ze všech tokochromanolů.

Relativní biologická aktivita tokochromanolů uvedená v tab. I vychází z pokusů se zvířaty, u kterých vitamin E působí jako antisterilní faktor. V těchto pracích byly například sledovány březí krysy s nedostatkem vitamínu E, které byly krmeny různým množstvím jednotlivých tokochromanolů, přičemž byl sledován vliv těchto látek na

přežití krysích plodů⁵. Ze získaných dat pak byla spočítána relativní biologická aktivita jednotlivých tokochromanolů. Tyto hodnoty však pravděpodobně nelze přímo použít pro člověka^{1,24}, u něhož nebyl pozorován antisterilní efekt tokochromanolů, který byl potvrzen v experimentech s různými zvířaty^{1,25}.

Pro posouzení účinnosti jednotlivých tokochromanolů u člověka je tak pravděpodobně rozhodujícím faktorem následující skutečnost: Tokochromanoly jsou po absorpci ze zažívacího traktu transportovány do jater, kde jsou pomocí transportního proteinu pro α -tokoferol (α -TTP) začleňovány do lipoproteinových částic a distribuovány do okolních tkání⁵. Bylo přitom zjištěno, že α -TTP upřednostňuje při vazebných interakcích větší počet methylových skupin, optickou konfiguraci *R*-uhlíku číslo 2 na chromanovém jádře a nasycený postranní řetězec. Experimentálně pak bylo potvrzeno, že α -TTP výrazně preferuje vazbu na α -tokoferol a ze všech jeho možných optických forem nejsnadněji váže *R,R,R*- α -tokoferol, který má díky tomu nejvyšší biologickou aktivitu (viz tab. II). Relativní afinita α -TTP k ostatním tokochromanolům (ve vztahu k *R,R,R*- α -tokoferolu, vůči němuž má afinitu 100 %) je pak následující: *R,R,R*- β -tokoferol 38 %, *R,R,R*- γ -tokoferol 9 %, *R,R,R*- δ -tokoferol 2 % a *R,R,R*- α -tokotrienol 12 % (cit.⁵; měřeno za podmínek soutěže mezi daným tokochromanolem a *R,R,R*- α -tokoferolem během membránového přenosu *in vitro*). α -Tokoferol je tak v těle zadržován, zatímco ostatní formy vitamínu E jsou v játrech přednostně metabolizovány a vylučovány²⁴. V důsledku toho je koncentrace α -tokoferolu v krevní plazmě (průměrně 20 $\mu\text{mol l}^{-1}$) přibližně 10krát větší než koncentrace γ -tokoferolu, a ostatní tokochromanoly se

Tabulka II

Relativní biologická aktivita optických isomerů α -tokoferolu⁵

Název	Relativní biologická aktivita [%]
2 <i>R</i> ,4' <i>R</i> ,8' <i>R</i> - α -tokoferol	100
2 <i>R</i> ,4' <i>R</i> ,8' <i>S</i> - α -tokoferol	90
<i>all-rac</i> - α -tokoferol	74
2 <i>R</i> ,4' <i>S</i> ,8' <i>S</i> - α -tokoferol	73
2 <i>S</i> ,4' <i>S</i> ,8' <i>S</i> - α -tokoferol	60
2 <i>R</i> ,4' <i>S</i> ,8' <i>R</i> - α -tokoferol	57
2 <i>S</i> ,4' <i>R</i> ,8' <i>S</i> - α -tokoferol	37
2 <i>S</i> ,4' <i>R</i> ,8' <i>R</i> - α -tokoferol	31
2 <i>S</i> ,4' <i>S</i> ,8' <i>R</i> - α -tokoferol	21

v plazmě vyskytují jen v zanedbatelném množství^{25–27}.

S ohledem na tuto skutečnost proto novější literatura^{1,5,9} uvádí, že jako vitamin E by měl být u člověka označován pouze α -tokoferol, resp. pouze jeho 2*R*-optické isomery⁵.

3. Význam vitaminu E pro člověka

Jak již bylo uvedeno, vitamin E byl objeven v roce 1922 jako sloučenina potřebná pro správné proběhnutí reprodukčního cyklu krys²⁸. Tato funkce vitaminu E však nebyla u člověka potvrzena¹, a ačkoliv k dnešnímu datu bylo provedeno obrovské množství studií, které si kladly za cíl objasnit, proč je vitamin E esenciálním mikronutrientem pro člověka, ani téměř 100 let od objevení tohoto vitaminu není známa jeho přesná biologická funkce²⁹. V odborné komunitě přitom převažují dva odlišné názory³⁰. Jedna část odborníků tvrdí, že vitamin E působí převážně (ne-li výhradně) jako antioxidant⁴, zatímco jiní zastávají názor, že vitamin E působí spíše tzv. neantioxidačními mechanismy³¹.

3.1. Antioxidační působení vitaminu E

Vitamin E (α -tokoferol; spolu s dalšími v tuku i ve vodě rozpustnými antioxidanty) poskytuje živým systémům účinnou obranu proti volným radikálům a poškozením, které tyto radikály vyvolávají na buněčné úrovni⁵. Vitamin E se přitom nachází ve všech membránách buněk (tedy jak v buněčné membráně, tak v membránách buněčného jádra, mitochondrií, endoplazmatického retikula a dalších)³. Šest molekul α -tokoferolu je dále součástí každé lipoproteinové LDL (tj. low density lipoprotein) částice, a nachází se také v HDL a VLDL lipoproteinech (tj. v high density a very low density lipoproteinech)^{3,8}.

Vzhledem k jasně potvrzené antioxidační aktivitě vitaminu E v *in vitro* studiích³², jeho umístění v membránách buněk a lipoproteinových částicích, a na základě jeho antioxidační aktivity pozorované v některých

in vivo studiích^{32–35}, je vitamin E považován za nenahraditelný lipofilní antioxidant, který zhasením peroxylových radikálů ochraňuje nenasyčené mastné kyseliny v biomembránách a lipoproteinových částicích *in vivo*. Tímto působením udržuje integritu polyenových mastných kyselin (například arachidonové kyseliny) a podporuje tak jejich aktivitu. Bioaktivní lipidy v membránách buněk jsou totiž důležité signální molekuly a jejich ztráta v důsledku oxidace může mít vliv na aktivitu enzymů, buněčné signální dráhy nebo expresi genů, a tím ovlivňovat např. shlukování krevních destiček, zánětlivý stav organismu nebo životní cyklus buněk a další děje⁴.

Význam vitaminu E jako antioxidantu v lidském těle potvrdila v roce 2010 i EFSA (tj. Evropský úřad pro bezpečnost potravin – European Food Safety Authority)³⁶, která povolila uvádět na potravinách zdravotní tvrzení: „Vitamin E přispívá k ochraně buněčných složek před oxidačním poškozením.“ Vitamin E má tedy potenciál pozitivně působit v prevenci vzniku a rozvoje onemocnění, která mohou vznikat v důsledku nadměrného oxidačního stresu (zejména tedy kardiovaskulárních nebo nádorových onemocnění)^{9,37}. Pro lidské zdraví je však významná také antioxidační funkce tokochromanolů uplatňující se v potravinách, kde během jejich skladování a zpracování inhibují vznik zdraví škodlivých látek (zejména některých oxidačních produktů lipidů) a zároveň ochraňují žádoucí složky potravy (např. esenciální mastné kyseliny) před oxidací³⁸.

Antioxidační aktivita tokoferolů i tokotrienolů je dána jejich schopností poskytovat vodíkové atomy volným lipidovým radikálům²³. Zdá se však, že *in vivo* α -tokoferol reaguje pouze s peroxylovými radikály³². Přitom se uvádí, že jedna molekula vitaminu E je schopna ochránit až přibližně 2000 lipidových molekul³⁷. Tato výjimečná schopnost je dána pravděpodobně kombinací tří faktorů:

- vyšší rychlosti reakce mezi vitaminem E a peroxylovými radikály ve srovnání s reakční rychlostí těchto radikálů s nenasyčenými mastnými kyselinami³⁴;
- schopností některých antioxidantů (např. vitaminu C) regenerovat radikály vitaminu E do jeho původní formy vykazující antioxidační vlastnosti⁴;
- schopností α -tokoferolu v jednom reakčním cyklu inaktivovat dva peroxylové radikály³.

Výjimečná schopnost α -tokoferolu působit jako antioxidant v biomembránách je pak dána nejen jeho obecnou schopností inaktivovat volné radikály, ale také jeho orientací v membránách. Předpokládá se, že α -tokoferol je v buněčných membránách zanořen do lipidové dvojvrstvy pomocí postranního řetězce, zatímco chromanový cyklus s hydroxylovou skupinou je orientován směrem k povrchu membrány. Hydrofobní interakce a vodíkové vazby mezi chromanovým jádrem, postranním řetězcem a mastnými kyselinami přitom stabilizují membránu a polohu chromanového jádra, které poskytuje vodíkový atom peroxylovým radikálům⁵.

Z α -tokoferolu vzniká v této reakci relativně stabilní α -tokoferoxylový radikál, který může dále reagovat několika způsoby:

- může být oxidován až na α -tokoferylchinon, který je

- pak z těla vylučován žlučí jako glukuronid nebo močí jako α -tokoferonová kyselina²⁷;
- b) může reagovat s dalšími radikály za vzniku neradikálových produktů^{3,23,27};
 - c) může migrovat z lipidové dvojvrstvy k povrchu membrány, kde ho může vitamin C (a jiné hydrofilní redukční sloučeniny) regenerovat zpět na vitamin E (cit.^{4,27,39});
 - d) může se stát potenciálním reiniciátorem lipidové peroxidace v důsledku své relativně dlouhé životnosti^{40,41}.

Jak již bylo zmíněno, antioxidační schopnost tokoferolů byla prokázána v řadě studií^{32–35}. Nejčastěji se přitom uvádí tyto dvě řady tokoferolů podle jejich klesajícího antioxidačního efektu $\delta > \gamma > \beta > \alpha$ -tokoferol nebo $\delta > \gamma = \beta > \alpha$ -tokoferol³. Pořadí jednotlivých tokoferolů podle antioxidační aktivity v systémech *in vitro* (a tedy i v potravinách) se tak významně liší od jejich pořadí podle biologické aktivity *in vivo*^{3,23} (viz dříve). Tento nesoulad lze vysvětlit významnou závislostí antioxidační efektivity tokoferolů na experimentálních podmínkách^{3,42} a možnou účastí tokoferoxylových radikálů (zejména α -tokoferoxylového radikálu) ve vedlejších (prooxidačních) reakcích v systémech *in vitro*^{43,44}. Naopak *in vivo* mohou být tokoferoxylové radikály regenerovány některými sloučeninami (vitamin C, ubiquinon)⁴⁴. Biologická aktivita *in vivo* je však pravděpodobně nejvýznamněji ovlivněna již zmíněnou rozdílnou afinitou α -TTP k jednotlivým tokoferolům (a tokotrienolům)^{5,44}.

3.2. Jiné než antioxidační působení vitaminu E

Jak již bylo naznačeno, někteří výzkumníci se domnívají, že vitamin E působí *in vivo* převážně jiným než antioxidačním způsobem³¹. Tito autoři přitom tvrdí, že tokochromanoly se v lidském organismu nemohou projevit antioxidačním účinkem, neboť se v něm vyskytují v příliš nízkých koncentracích^{7,31}, a že doposud provedené studie antioxidační funkce vitaminu E *in vivo* jsou nedostatečné^{1,6}.

Ne-antioxidační působení vitaminu E bylo ve většině případů studováno pouze u α -tokoferolu, a to jak v buněčných modelových systémech, tak v některých experimentech se zvířaty^{1,6,45–51}. V rámci těchto pokusů bylo zjištěno, že α -tokoferol se může specificky vázat na některé proteiny, a tím se může zapojovat např. do regulace exprese genů nebo modulovat aktivitu některých enzymů (např. proteinkiny C, fosfatidylinositol-3-kinasy nebo cyklooxygenasy)^{1,52}. V důsledku toho může vitamin E pravděpodobně ovlivňovat zejména protizánětlivý stav organismu^{1,53}, srážení krevních destiček^{1,54} nebo ukládání lipidů v aortě^{1,55}, což může následně např. snižovat cévní komplikace u diabetiků^{1,56}.

Teorii ne-antioxidačního působení α -tokoferolu podporuje také skutečnost, že kromě vazby α -tokoferolu prostřednictvím jeho hydroxylové skupiny na některé proteiny může *in vivo* docházet také k obalení chromanového jádra α -tokoferolu některými bílkovinami a k esterifikaci α -tokoferolu kyselinou fosforečnou, přičemž všechny tyto modifikace vedou ke ztátě antioxidační aktivity vitaminu E

(cit.^{1,6}).

Vědeckých prací studujících ne-antioxidační potenciál ostatních tokochromanolů je ve srovnání se studiem s α -tokoferolem jen relativně málo. Existující práce však ukázaly, že β - (cit.⁵⁷), γ - a δ -tokoferol^{58–62} mohou prostřednictvím specifických vazebných interakcí¹ vykazovat protizánětlivý, antineoplastický a natriuretický účinek. Zejména protizánětlivá aktivita γ -tokoferolu (často vyšší než α -tokoferolu⁶³) byla přitom potvrzena v řadě studií^{1,64,65}. Tokotrienoly pak mají pravděpodobně zejména schopnost snižovat hladinu cholesterolu^{5,66,67}, a to potlačením aktivity 3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzym A-reduktasy, která se účastní syntézy cholesterolu⁵.

4. Závěr

Jak je z tohoto přehledu patrné, ačkoliv vitamin E brzy oslaví své „sté narozeniny“, potenciál jeho výzkumu není ještě zdaleka vyčerpán, a to zejména v oblasti studia tokomonoenolů a dalších „nových“ látek s aktivitou vitaminu E, a dále pak v rámci plného objasnění mechanismů působení vitaminu E *in vivo*.

LITERATURA

1. Azzi A.: Mol. Aspects Med. 61, 92 (2018).
2. Zingg J. M.: Mol. Aspects Med. 28, 400 (2007).
3. Velíšek J.: *The Chemistry of Food*. John Wiley & Sons, Hoboken 2014.
4. Traber M., Atkinson J.: Free Radicals Biol. Med. 43, 4 (2007).
5. Eitenmiller R., Lee J.: *Vitamin E: Food Chemistry, Composition, and Analysis*. Marcel Dekker Inc., New Yourk 2004.
6. Galli F., Azzi A., Birringer M., Cook-Mills J. M., Eggersdorfer M., Frank J., Cruciani G., Lorkowski S., Özer N. K.: Free Radicals Biol. Med. 102, 16 (2017).
7. Azzi A., Meydani S. N., Meydani M., Zingg J. M.: Arch. Biochem. Biophys. 595, 100 (2016).
8. Eitenmiller R. R., Landen W. O., v knize: *Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences* (Eitenmiller R. R., Landen W. O., Ye L., ed.), kap. 3, str. 119. CRC Press, Boca Raton 2008.
9. Péter S., Friedel A., Roos F. F., Wyss A., Eggersdorfer M., Hoffmann K., Weber P.: Int. J. Vitam. Nutr. Res. 14, 1 (2016).
10. Gotoh N., Watanabe H., Oka T., Mashimo D., Noguchi N., Hata K., Wada S.: Lipids 44, 133 (2009).
11. Butinar B., Bučar-Miklavčič M., Mariani C., Raspor P.: Food Chem. 128, 505 (2011).
12. Kruk J., Pisarski A., Szymańska R.: J. Plant Physiol. 168, 2021 (2011).
13. Fiorentino A., Mastellone C., D'Abrosca B., Pacifico S., Scognamiglio M., Cefarelli G., Caputo R., Monaco P.: Food Chem. 115, 187 (2009).
14. Irías-Mata A., Stuetz W., Sus N., Hammann S., Gralla K., Cordero-Solano A., Vetter W., Frank J.: J. Agric. Food Chem. 65, 7476 (2017).

15. Ng M. H., Choo Y. M., Ma A. N., Chuah C. H., Hashim M. A.: *Lipids* 39, 1031 (2004).
16. Qureshi A. A., Mo H., Packer L., Peterson D. M.: *J. Agric. Food Chem.* 48, 3130 (2000).
17. Pacifico S., Scognamiglio M., D'Abrosca B., Monaco P., Fiorentino A., v knize: *Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods* (Nollet L. M. L., Toldrá F., ed.), kap. 10, str. 165. CRC Press, Boca Raton 2012.
18. Gasparoli A., Mariani C.: *Riv. Ital. Sostanze Grasse* 93, 77 (2016).
19. Yamamoto Y., Maita N., Fujisawa A., Takashima J., Ishii Y., Dunlap W. C.: *J. Nat. Prod.* 62, 1685 (1999).
20. Gotoh N., Mashimo D., Oka T., Sekiguchi K., Tange M., Watanabe H., Noguchi N., Wada S.: *Food Chem.* 129, 279 (2011).
21. Dunlap W. C., Fujisawa A., Yamamoto Y., Moylan T. J., Sidell B. D.: *Comp. Biochem. Physiol., Part B: Biochem. Mol. Biol.* 133, 299 (2002).
22. Hammann S., Englert M., Müller M., Vetter W.: *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 9010 (2015).
23. Kamal-Eldin A., Appelqvist L. A.: *Lipids* 31, 671 (1996).
24. Traber M. G.: *J. Lipid Res.* 54, 2295 (2013).
25. Brigelius-Flohe R., Kelly F. J., Salonen J. T., Neuzil J., Zingg J. M., Azzi A.: *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 703 (2002).
26. Bruno R. S., v knize: *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods* (Wildman R. E. C., ed.), kap. 16, str. 309. CRC Press, Boca Raton 2007.
27. Traber M. G.: *Adv. Nutr.* 5, 503 (2014).
28. Evans H. M., Bishop K. S.: *Science* 56, 650 (1922).
29. Brigelius-Flohe R., Galli F.: *Mol. Nutr. Food Res.* 54, 583 (2010).
30. Brigelius-Flohe R., Davies K. J. A.: *Free Radicals Biol. Med.* 43, 2 (2007).
31. Azzi A.: *Free Radicals Biol. Med.* 43, 16 (2007).
32. Niki E.: *Free Radicals Biol. Med.* 66, 3 (2014).
33. Parola M., Leonarduzzi G., Biasi F., Albano E., Biocca M. E., Poli G., Dianzani M. U.: *Hepatology* 16, 1014 (1992).
34. Mastaloudis A., Leonard S. W., Traber M. G.: *Free Radicals Biol. Med.* 31, 911 (2001).
35. Bruno R. S., Ramakrishnan R., Montine T. J., Bray T. M., Traber M. G.: *Am. J. Clin. Nutr.* 81, 95 (2005).
36. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: *EFSA J.* 8, 1816 (2010).
37. Rizvi A., Raza S. T., Ahmed F., Ahmad A., Abbas S., Mahdi F.: *Sultan Qaboos Univ. Med. J.* 14, 157 (2014).
38. Réblová Z., Peprná T.: *Chem. Listy* 107, 271 (2013).
39. Bruno R. S., Leonard S. W., Atkinson J., Montine T. J., Ramakrishnan R., Bray T. M., Traber M. G.: *Free Radicals Biol. Med.* 40, 689 (2006).
40. Bowry V. W., Ingold K. U., Stocker R.: *Biochem. J.* 288, 341 (1992).
41. Bowry V. W., Stocker R.: *J. Am. Chem. Soc.* 115, 6029 (1993).
42. Réblová Z.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108, 858 (2006).
43. Yanishlieva N. V., Kamal-Eldin A., Marinova E. M., Toneva A. G.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104, 262 (2002).
44. Mukai K., Noborio S., Nagaoka S. I.: *Int. J. Chem. Kinet.* 37, 605 (2005).
45. Ambrogini P., Betti M., Galati C., Di Palma M., Lattanzi D., Savelli D., Galli F., Cuppini R., Minelli A.: *Int. J. Mol. Sci.* 17, 2107 (2016).
46. Pédebosq S., Rey C., Petit M., Harpey C., De Giorgi F., Ichas F., Lartigue L.: *PLoS One* 7, e36811 (2012).
47. Yang Y., McClements D. J.: *Food Chem.* 141, 473 (2013).
48. Vieira-Filho L. D., Cabral E. V., Santos F. T., Coimbra T. M., Paixao A. D.: *Pediatr. Nephrol.* 26, 2019 (2011).
49. Ozer N. K., Sirikci O., Taha S., San T., Moser U., Azzi A.: *Free Radicals Biol. Med.* 24, 226 (1998).
50. Han S. N., Pang E., Zingg J. M., Meydani S. N., Meydani M., Azzi A.: *Arch. Biochem. Biophys.* 495, 49 (2010).
51. Zingg J. M., Han S. N., Pang E., Meydani M., Meydani S. N., Azzi A.: *Arch. Biochem. Biophys.* 538, 111 (2013).
52. Zingg J. M.: *Annu. Rev. Nutr.* 35, 135 (2015).
53. Freedman J. E., Farhat J. H., Loscalzo J., Keaney Jr. J. F.: *Circulation* 94, 2434 (1996).
54. Cook-Mills J. M.: *J. Clin. Cell. Immunol.* 4, 1000137 (2013).
55. Ozer N. K., Azzi A.: *Toxicology* 148, 179 (2000).
56. Bursell S. E., King G. L.: *Diabetes Res. Clin. Pract.* 45, 169 (1999).
57. Kamei Y., Otsuka Y., Abe K.: *Cytotechnology* 59, 183 (2009).
58. Smolarek A. K. a 11 spoluautorů: *Cancer Prev. Res.* 5, 1310 (2012).
59. Guan F., Li G., Liu A. B., Lee M. J., Yang Z., Chen Y. K., Lin Y., Shih W., Yang C. S.: *Cancer Prev. Res.* 5, 644 (2012).
60. Li G. X., Lee M. J., Liu A. B., Yang Z., Lin Y., Shih W. J., Yang C. S.: *Cancer Prev. Res.* 4, 404 (2011).
61. Xu M. a 18 spoluautorů: *J. Biol. Chem.* 287, 39349 (2012).
62. Shibata A., Nakagawa K., Tsuduki T., Miyazawa T.: *J. Nutr. Biochem.* 26, 345 (2015).
63. Jiang Q., Ames B. N.: *FASEB J.* 17, 816 (2003).
64. Elisia I., Kitts D. D.: *Am. J. Physiol.* 305, G940 (2013).
65. Wagner J. G., Birmingham N. P., Jackson-Humbles D., Jiang Q., Harkema J. R., Peden D. B.: *Free Radicals Biol. Med.* 68, 101 (2014).
66. Qureshi A. A. a 10 spoluautorů: *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 10215 (1991).
67. Qureshi A. A., Bradlow B. A., Brace L., Manganello J., Peterson D. M., Pearce B. C., Wright J. J., Gapor A., Elson C. E.: *Lipids* 30, 1171 (1995).

J. Fišnar and Z. Réblová (*Department of Food Analysis and Nutrition, University of Chemistry and Technology Prague*): **Vitamin E – Known or Unknown?**

Vitamin E was described in 1922 and its basic mechanism of action was elucidated in 1931. However, some new compounds with vitamin E activity have been discovered, and some unknown mechanisms of action of this vitamin *in vivo* have been described in a research conducted in the last 20 years. Therefore, the present review provides a comprehensive, current view of vitamin E.

Keywords: vitamin E, tocopherols, tocotrienols, tocomonoenols, antioxidants, biological activity

● Fišnar J., Réblová Z.: Chem. Listy 116, 287–292 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220287>

KURKUMA, ŽLUTÝ ZÁZRAK Z VÝCHODU

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-
technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
drasarp@vscht.cz

Došlo 29.10.21, přijato 1.12.21.

Klíčová slova: kurkuma, kurkumovník, kurkuminoidy,
kurkumin, E100

• <https://doi.org/10.54779/chl20220293>

Kurkuma, v češtině též indický šafrán, žlutý kořen, žlutý zázvor, indický lék, indický ženšen či žlutý zázrak (angl. turmeric, castor saffron, saffron root) je prášek vyráběný vařením (v alkalickém prostředí), usušením a pomletím oddenku kurkumovníku (*Curcuma longa* L., syn. *Curcuma domestica* Valetton, *Stissera curcuma* Giseke, *Amomum curcuma* Jacq. V literatuře se vyskytuje i název *Kua domestica* Medik. (nom. illeg.), který však vznikl jako tisková chyba. S českým jménem podle Presla (1846) kurkuma dlouhá, či podle Marečka (1994) kurkumovník domácí, je rostlina patřící do čeledi Zingiberaceae Lindl. – zázvorovité. Popsána a charakterizována byla celá řada kurkum¹. Pěstována již nejméně 4000 let je proslulou drogou (léčivou drogou), ale i typickým kořením orientální kuchyně a materiálem pro barvířství. Zejména v Indii je používána buď samostatně nebo jako součást koření typu masála či kari. Kari je původně indické jídlo, dušenina, podle kterého dostalo koření, jež se v něm typicky používá, i svůj anglický název „curry powder“. Samostatně se kurkuma používá i k barvení látek, dřeva a potravin na žluto (hořčice, cereálie, „vaječné“ výrobky, brambůrky, sýr, zmrzlina, máslo, margariny apod.)², proslulá je žlutá kari rýže nebo žlutoučké brambory obarvené tím, že se kurkuma přidá do vody při jejich vaření. V Indii je známý i čaj s přídavkem těchto koření.

Žlutohnědý prášek má charakteristickou vůni a lehce palčivou, dřevnatou či nahořklou chuť. Barva drogy se skladováním nemění, kdežto vůně může dlouhým skladováním ztratit na intenzitě. Už ve Wikipedii se dozvíme, že má vynikající protizánětlivé účinky³ a je prokazatelným antioxidantem⁴. Významně podporuje mozkové kognitivní funkce, zejména u starších lidí⁵. Ve světové literatuře existuje řada seriózních popisů kurkumy⁶ i kurkuminu^{7,8} a dalších komponent rostliny *Curcuma longa* L. (cit.⁹). Česká literatura se, bohužel, většinou omezuje na popis faktů a někdy i pověr, bez literárních citací. Obecně lze kurkumu a kurkumin označit za vysoce aktivní biologický materiál s potenciálem léčit či předcházet různým onemoc-



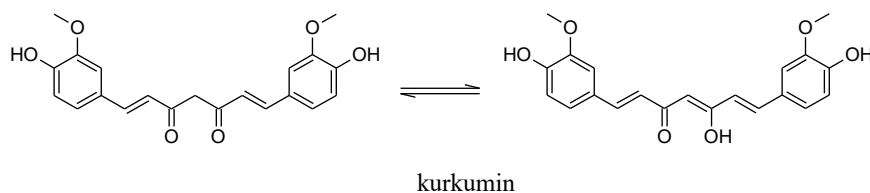
Obr. 1. „Cyperus“ ze španělského překladu Dioskoridovy knihy¹²

něním i v rámci moderní medicíny¹⁰. Použití nalezne kurkuma i proti hypoxii způsobené vysokými nadmořskými výškami¹¹.

Kurkuma pochází z Orientu. Většinou byla vyráběna v Indii (zejména v jihoindickém městě Erode, známém též jako „Žluté město“). Do Evropy se kurkuma dostala od arabských kupců a v období 50–75 n. l. ji popsal Pedanius Dioscorides ve svém díle *Περὶ ὕλης ἰατρικῆς (O léčivech)*¹² pod názvem Cyperus. Název kurkuma (curcuma) pochází z arabského kurkum či hebrejského karkom, znamenající žlutý. Kurkuma i kurkumin mají potravinářský status GRAS (generally recognized as safe)^{13,14}; nejsou však schváleny pro barvení majonézy a salátových dressingů. Příjem kurkuminu z normální diety by podle reevaluace EFSA z roku 2010 měl činit méně než 3 mg/kg/den (cit.¹⁵).

Anglický název turmeric pochází ze sanskrtu a opět ve významu žlutý¹⁶. Pro svoji velmi intenzivně žlutou barvu bývá kurkuma míchána s metanilovou žlutí (Acid Yellow 36, 3-(4-anilino-fenylazo)benzensulfonan sodný), která je toxická. V lepším případě je kurkuma ředěna cihlovým práškem či křídou¹⁷.

Z kurkumy bylo izolováno více než 100 komponent. Hlavní složkou kořene je těkavý olej, obsahující voňavé turmerony a barviva zvaná kurkuminoidy (zejména kurkumin (2,86–5,69 %), demethoxykurkumin (1,47 %), bisdemethoxykurkumin (1,36 %), 5'-methoxykurkumin a dihydrokurkumin)¹⁸, které byly studované stran antioxidantních



a protirakovinných účinků. Bylo popsáno, že za antioxidační vlastnosti může být zodpovědný i z drogy izolovaný protein TAP (Turmeric Antioxidant Protein)¹⁹.

Kurkumin (E100, CI Natural Yellow 3, kurkumová žluť, kurkum, diferuoylmethan) je nejdůležitější složkou kurkumy a hlavním článkem její biologické aktivity. Značnou nevýhodou kurkuminu je jeho praktická nerozpustnost ve vodě, která činí $3 \cdot 10^{-5}$ $\mu\text{mol ml}^{-1}$ (cit.²⁰); $\log P$ 2,92 (ACD/LogP v. 14,50). Rozpustnost ve vodě lze až 12× zvýšit za tepla, aniž přitom dojde ke změnám zaznamenaným spektrofotometrickou analýzou²¹. Lépe se rozpouští v ethanolu. Také je popsána celá řada úspěšných substitucí, formulací a forem ke zvýšení rozpustnosti^{22,23}. Špatná biodostupnost této velmi biologicky účinné látky s minimální toxicitou (p. o. u myši $\text{LD}_{50} > 2000$ mg/kg) je příčinou, že jednotlivé perorální dávky kurkuminu 1–5 g/kg nevyvolaly u potkanů žádné toxické účinky²⁴. Nebyly hlášeny žádné případy předávkování. Kurkumin byl izolován v roce 1815, ale až v roce 1910 byla objasněna jeho struktura jako diferuoylmethan ((1*E*,6*E*)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)hepta-1,6-dien-3,5-dion)²⁵.

Již v roce 1949 bylo publikováno, že kurkumin má antibakteriální vlastnosti²⁶, a to i na *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphi*, *Trichophyton gypseum* a mykobakterium způsobujícím tuberkulózu. Poté se po roce 1970 stal předmětem dalšího vědeckého bádání a byly publikovány aktivity jako antidiabetická²⁷, hypocholesteromická²⁸, protizánětlivá²⁹ a antioxidační³⁰. Později v osmdesátých letech bylo poukázáno na aktivitu protirakovinnou jak *in vitro*, tak *in vivo*³¹, a to skutečně z mnoha účinků (antiproliferačního, proapoptotického, antimetastatického)²³. V roce 1995 bylo publikováno, že vykazuje protizánětlivou aktivitu potlačením prozánětlivého jaderného transkripčního faktoru NF- κ B (cit.³²). Až do současnosti lze dokumentovat výzkum použití kurkuminu jako neuroprotektiva a jako látky pozitivně ovlivňující subjekty s Alzheimerovou chorobou¹⁰. Dále jsou zkoumány jeho extenzivní kardioprotektivní³³, antimalarické³⁴, fungicidní³⁵ a anticytotoxické³⁶ účinky.

V letech 2017–2019 byla provedena klinická studie použití kurkuminu pro udržování nebo zlepšení fyzických a kognitivních funkcí během stárnutí dospělých při zvýšeném riziku jejich postižení³⁷. Klinické testy

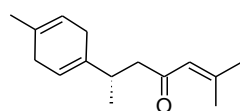
(ClinicalTrials.gov jich udává zatím 272) s kurkuminem byly shrnuty v roce 2013 (cit.³⁸) a 2021 (cit.²³). Je nutno ale přiznat, že existují i zmínky o možném negativním působení kurkuminu na lidské zdraví³⁹, navíc Drugbank online udává 796 možných případů interakce s jinými léčivými²⁴. Publikovány byly i přehledy použití synteticky obměněného kurkuminu²³.

Také turmerony mají zajímavé biologické vlastnosti. Patří k nim aktivita antimykotická⁴⁰, protizánětlivá (psoriasis)⁴¹, použití k prevenci a léčení ulcerózní kolitidy⁴², ale i k prevenci demence⁴³ inhibicí β -sekreasy, ba dokonce i proti poškození hepatocytů vyvolaném ethanolem⁴⁴.

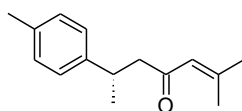
Zdá se, že některé přírodní látky mohou mít tak široké spektrum využití, že je můžeme považovat téměř za univerzální bolehoy^{45–47}, což rádi zaznamenáváme a pokračujeme^{48,49} ve zveřejňování „učebních“ textů na taková témata v našich Chemických listech.

LITERATURA

1. Leong-Škorníčková J., Šída O., Marhold K.: *Taxon* 59, 269 (2010).
2. Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Drašar P.: *Chem. Listy* 99, 802 (2005).
3. Bagad A. S., Joseph J. A., Bhaskaran N.: *Adv. Pharm. Sci.* 2013, 805756.
4. Liju V. B., Jeena K., Kuttan R.: *Indian J. Pharmacol.* 43, 526 (2011).
5. Ng T.-P., Chiam P.-C., Lee T.: *Am. J. Epidemiol.* 164, 898 (2006).
6. Prasad S., Aggarwal B. B., v knize: *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects* (Benzie I. F. F., Wachtel-Galor S., ed.), 2. vyd., kap. 13. CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton 2011.
7. Abd El-Hack M. E., El-Saadony M. T., Swelum A. A., Arif M., Abo Ghanima M. M., Shukry M., Noreldin A., Tahah A. E., El-Tarabily K. A.: *Sci. Food Agric.* 101, 5747 (2021).
8. Gupta S. C., Patchva S., Koh W., Aggarwal B. B.: *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 39, 283 (2012).
9. Vo T. S., Vo T. T. B. C., Vo T. T. T. N., Lai T. N. H.: *J. Turkish Chem. Soc.* 8, 883 (2021).
10. Amalraj A., Pius A., Gopi S., Gopi S.: *Afr. J. Tradit., Complementary Altern. Med.* 7, 205 (2017).
11. Mishra J., Bhardwaj A., Misra K.: *Curcuma sp.: The Nature's Souvenir for High-Altitude Illness*, v knize: *Management of High Altitude Pathophysiology*, str. 153, Academic Press, Elsevier, London 2018.



turmeron



ar-turmeron

12. Dioscorides P.: *De materia medica* (Διοσκουρίδης Π.: Περὶ ὕλης ἱατρικῆς), Kilikie mezi roky 50 až 75 n. l.
 13. GRAS Notice (GRN) No. 822, No. 686; <https://www.fda.gov/food/generally-recognized-safe-gras/gras-notice-inventory>, staženo 10. 10. 2021.
 14. FDA Food Additive Status List; <https://www.fda.gov/media/132575/download>, staženo 10. 10. 2021.
 15. Aguilar F. a 18 spoluautorů: EFSA J. 8, 1679 (2010); <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1679>, staženo 10. 10. 2021.
 16. Kumar A., Dora J., Singh A.: Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol. 2, 371 (2011).
 17. Abhishek K., Niharika K., Manisha E., Geetanjali K., Krishna Mohan C., Vamshi Sharathnath K.: Indo Am. J. Pharm. Sci. 8, 30 (2021).
 18. Ruby A. J., Kuttan G., Dinesh Babu K., Rajasekharan K. N., Kuttan R.: Cancer Lett. 94, 79 (1995).
 19. Selvam R., Subramanian L., Gayathri R., Angayarkanni N.: J. Ethnopharmacol. 47, 59 (1995).
 20. Kaminaga Y., Nagatsu A., Akiyama T., Sugimoto N., Yamazaki T., Maitani T., Mizukami H.: FEBS Lett. 555, 31 (2003).
 21. Kurien B. T., Singh A., Matsumoto H., Hal Scofield R.: Assay Drug Dev. Technol. 5, 567 (2007).
 22. Carvalho D. D. M., Takeuchi K. P., Geraldine R. M., de Moura C. J., Torres M. C. L.: Food Sci. Technol. 35, 115 (2015).
 23. Nocito M. C. a 10 spoluautorů: Biomedicines 9, 1476 (2021).
 24. Drugbank online; <https://go.drugbank.com/drugs/DB11672>, staženo 11. 10. 2021.
 25. Milobedzka J., Kostanecki S., Lampe V.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 43, 2163 (1910).
 26. Schraufstatter E., Bernt H.: Nature 164, 456 (1949).
 27. Srinivasan M.: Indian J. Med. Sci. 26, 269 (1972).
 28. Patil T. N., Srinivasan M.: Indian J. Exp. Biol. 9, 167 (1971).
 29. Srimal R. C., Dhawan B. N.: J. Pharm. Pharmacol. 25, 447 (1973).
 30. Sharma O. P.: Biochem. Pharmacol. 25, 1811 (1976).
 31. Kuttan R., Bhanumathy P., Nirmala K., George M. C.: Cancer Lett. 29, 197 (1985).
 32. Singh S., Aggarwal B. B.: J. Biol. Chem. 270, 24995 (1995).
 33. Hong D., Zeng X., Xu W., Ma J., Tong Y., Chen Y.: Pharm. Res. 61, 142 (2010).
 34. Nayak A. P., Tiyaaboonchai W., Patankar S., Madhusudhan B., Souto E. B.: Colloids Surf., B 81, 263 (2010).
 35. Perko T., Ravber M., Knez Ž., Skerget M.: J. Supercrit. Fluids 103, 48 (2015).
 36. Zhang Q., Zhong Y., Yan L., Sun X., Gong T., Zhang Z.: Bioorg. Med. Chem. Lett. 21, 1010 (2011).
 37. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03085680.
 38. Gupta S. C., Patchva S., Aggarwal B. B.: AAPS J. 15, 195 (2013).
 39. Burgos-Morón E., Calderón-Montañño J.-M., Salvador J., Robles A., López-Lázaro M.: Int. J. Cancer 126, 1771 (2010).
 40. Jankasem M., Wuthi-Udomlert M., Gritsanapan W.: Int. Scholarly Res. Not. 2013, 250597.
 41. Yang S., Liu J., Jiao J., Jiao L.: Inflammation 43, 478 (2020).
 42. Zhang L., Li C., Shi Y., Chi Y., Pan C., Xu Y., Luo Y., Xiang H.: Faming Zhuanli Shenqing (2020), CN 111991376.
 43. Matsumura S., Murata K., Zaima N., Yoshioka Y., Morimoto M., Kugo H., Yamamoto A., Moriyama T., Matsuda H.: Nat. Prod. Commun. 11, 1785 (2016).
 44. Megumi C., Muroyama K., Sasako H., Tsuge N.: Food Sci. Technol. Res. 23, 275 (2017).
 45. Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: Chem. Listy 115, 363 (2021).
 46. Kodr D., Rumlová M., Zimmermann T., Džubák P., Drašar P., Jurášek M.: Chem. Listy 114, 658 (2020).
 47. Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: Chem. Listy 115, 458 (2021).
 48. Lapčík O., Čopíková J., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 101, 44 (2007).
 49. Čopíková J., Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 100, 778 (2006).
- M. Jurášek and P. Drašar** (*Department of Chemistry of Natural Compounds, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Turmeric, Yellow Miracle from the East**
- Turmeric, Indian saffron, is being used for at least 4000 years. It is a well known medicinal drug and spice. Curcumin, the its main component, has vast biological activity, *i.a.* as an antibacterial, antidiabetic, hypocholesteromic, anti-inflammatory, antioxidant, neuroprotective, and even anticancer agent.
- Full text English translation is available in the on-line version.
- Keywords:** turmeric, curcuminoids, curcumin, E100
- Jurášek M., Drašar P.: Chem. Listy 116, 293–295 (2022).
 ● <https://doi.org/10.54779/chl20220293>

LIMONÉN A JEHO OXIDOVANÉ DERIVÁTY: VLASTNOSTI, APLIKÁCIE A BIOTECHNOLOGICKÁ PRODUKCIA

KATARÍNA KANIAKOVÁ, HELENA HRONSKÁ,
DOMINIKA ŠILHÁROVÁ a MICHAL
ROSENBERG

Ústav biotechnológie, Fakulta chemickej a potravinárskej
technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského
9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika
helen.hronska@stuba.sk

Došlo 26.4.21, prijaté 10.1.22.

Kľúčové slová: limonén, oxidované deriváty, aplikácie,
biotransformácia, biologická aktivita

• <https://doi.org/10.54779/chl20220301>

Obsah

1. Úvod
2. Limonén
 - 2.1. Vlastnosti
 - 2.2. Aplikácie
 - 2.3. Zdroje limonénu
 - 2.4. Biotechnologická produkcia limonénu
3. Oxidované deriváty limonénu
 - 3.1. Perilylalkohol a kyselina perilová
 - 3.2. Karveol a karvón
 - 3.3. Limonén-1,2-epoxid a limonén-1,2-diol
 - 3.4. α -Terpineol
 - 3.5. Izopiperitenol a limonén-8,9-epoxid
4. Záver

1. Úvod

Jedným z najčastejšie sa vyskytujúcich monoterpénov v prírode je cyklický monoterpén limonén. Existuje v dvoch enantiomérnych formách, *R*-(+)- a *S*-(-)-limonén. Spomedzi nich sa častejšie vyskytuje (+)-limonén, ktorý je majoritnou zložkou citrusových esenciálnych olejov. V súčasnosti sa získava ako vedľajší produkt pri výrobe citrusových štiav. Jeho ročná produkcia dosahuje 60 000 t a predpokladá sa, že do roku 2023 narastie na viac ako 65 000 t/rok (cit.^{1,2}).

Limonén je atraktívnym substrátom pre produkciu cenných terpenoidných zlúčenín, akými sú napr. α -terpineol, perilylalkohol, karveol, karvón a mentol. Regiošpecifické vnesenie hydroxylovej alebo karbonylovej skupiny do štruktúry limonénu pomocou chemických me-

tód je veľmi náročné. Aj preto sa biotransformáciami (+)-limonénu vedci zaoberajú už od šesťdesiatych rokov minulého storočia. Odvtedy bolo identifikované veľké množstvo mikroorganizmov schopných transformovať limonén na enantioméne čisté produkty s aplikačným alebo syntetickým potenciálom v rôznych priemyselných odvetviach.

2. Limonén

2.1. Vlastnosti

Limonén je bezfarebná až do žltá sfarbená, olejovitá kvapalina s nízkou rozpustnosťou vo vode, ktorá je americkou Správou potravín a liečiv (Food and Drug Administration, FDA) všeobecne považovaná za bezpečnú (Generally Recognized as Safe, GRAS)³. Vyskytuje sa v dvoch enantiomérnych formách, (*R*)- a (*S*)-limonén. Pravootočivý izomér, (*R*)-(+)-limonén, má typickú pomarančovú arómu a vyskytuje sa v rôznych rastlinách, najmä v kôre plodov *Citrus spp.*, akými sú napr. pomaranče, citróny a mandarínky. Druhý izomér, (*S*)-(-)-limonén sa vyznačuje terpentínovou vôňou a je prítomný v esenciálnych olejoch z rastlín rodu *Mentha spp.* a *Pinus spp.*^{4,5}. Okrem toho existuje limonén aj vo forme racemickej zmesi, označovanej ako dipentén⁶. Základné fyzikálne a chemické vlastnosti izomérov limonénu sú zhrnuté v tab. I.

Limonén je málo toxický pri orálnom požití, nie je genotoxický ani teratogénny⁷. Čistý limonén pri kontakte s pokožkou je iba minimálne dráždivý, avšak jeho alergénosť súvisí s procesom jeho oxidácie. Oxidatívne produkty – hydroperoxydy a karvón sú silné kontaktné alergény⁸.

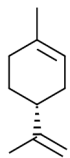
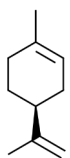
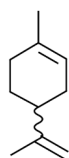
2.2. Aplikácie

(+)-Limonén je bežne využívaný v potravinárstve ako aróma a ochucovadlo v cukrovinkách, žuvačkách, nealko nápojoch či zmrzlínach. Je tiež jednou z najčastejšie používaných aromatických látok v kozmetike. Bežne sa vyskytuje ako súčasť mydiel, sprchových gélov, šampónov, kondicionérov a parfúmův⁴. Je tiež súčasťou rôznych čistiacich prostriedkov a osviežovačov vzduchu⁹.

Limonén bol jednou z prvých schválených prírodných prísad v pesticídoch (v USA bol registrovaný už v roku 1958). Insekticídne vlastnosti boli popísané napr. voči hmyzu z nadčelade *Coccoidea*¹⁰. U parazitického prvoka spôsobujúceho maláriu, *Plasmodium falciparum*, limonén inhibuje izoprenyláciu proteínov a zastavuje tak jeho rast¹¹. Nízka orálna a dermálna toxicita voči cicavcom umožnila jeho použitie v prípravkoch proti kliešťom a blchám, aj v repelentoch proti hmyzu⁵. Limonén vykazu-

Tabuľka I

Vlastnosti izomérov limonénu^{61–65}

Vlastnosť	(+)-Limonén	(-)-Limonén	Racemický limonén
Štruktúra			
Iné používané názvy	D-limonén (R)-limonén	L-limonén (S)-limonén	dipentén rac-limonén
IUPAC názov	(R)-1-metyl-4-prop-1-én-2-yl- -cyklohexén	(S)-1-metyl-4-prop-1-én-2-yl- -cyklohexén	1-metyl-4-prop-1-én-2-yl- -cyklohexén
CAS číslo	5989-27-5	5989-54-8	138-86-3
Molekulová hmotnosť, g mol ⁻¹	136,23	136,23	136,23
Teplota topenia, °C	-74,0 (cit. ⁶²)	-74,0 (cit. ⁶³)	-86,4 (cit. ⁶⁴)
Teplota varu, °C	177,0 (cit. ⁶²)	177,0 (cit. ⁶³)	176,0 (cit. ⁶⁴)
Teplota vzplanutia, °C	44,8 (cit. ⁶²)	44,9 (cit. ⁶³)	45,1 (cit. ⁶⁴)
Hustota, g ml ⁻¹ (pri 20 °C)	0,8411	0,8422	0,8402
Tlak pár, Pa (pri 20 °C)	190	190	190
Rozpustnosť vo vode, mg l ⁻¹ (pri 25 °C)	13,8 (cit. ⁶⁵)	–	–
Koeficient prestupu oktanol/ voda, Log K _{OW}	4,23	4,57 (cit. ⁶³)	4,83

je bakteriostatické a baktericídne účinky voči viacerým patogénnym baktériám, ako napr. *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* a *Listeria monocytogenes*. Toxicita limonénu je pravdepodobne spojená s jeho lipofilitou a ovplyvňuje tak membránový transport a metabolizmus buniek⁶.

Z medicínskeho hľadiska je limonén zaujímavý pre svoje chemoterapeutické a chemopreventívne vlastnosti, ktoré boli popísané voči viacerým druhom nádorových buniek spôsobujúcich napr. rakovinu pľúc, prostaty alebo prsníka¹². (+)-Limonén je súčasťou komerčných výživových doplnkov deklarujúcich podporu metabolizmu a detoxifikáciu organizmu.

V chemickom priemysle predstavuje ekologickú alternatívu k toxickým organickým rozpúšťadlám získavaných z fosílnych palív. Limonén je potenciálnou náhradou za rozpúšťadlá ako napr. hexán, toluén a dichlórmétán⁵.

2.3. Zdroje limonénu

V priemyselnom meradle sa (+)-limonén získava predovšetkým ako vedľajší produkt pri spracovaní odpadu z citrusov. Ročne sa vyprodukuje približne 25–30 miliónov ton pomarančových šupiek ako odpad pri výrobe pomarančových džúsov¹³. Biomasa z citrusov je cenným zdrojom pektínu a dá sa tiež použiť ako substrát na biotechnologickú výrobu etanolu, metánu, alebo kyseliny citrónovej¹⁴. Na to, aby bolo možné biomasu takto využiť,

je nutné z nej najprv odstrániť limonén, ktorý inhibuje mikroorganizmy používané v týchto procesoch¹⁵. Limonén pritom predstavuje až 3,8 % zo sušiny citrusového odpadu¹⁴.

Racemický limonén je možné pripraviť z terpentínu (produkcia 450 t/rok v USA), ale aj pyrolýzou starých pneumatík¹⁵. Takto produkovaný limonén je vhodný iba na technické účely.

Dopyt po limonéne každým rokom narastá, pričom jeho cena je priamo závislá na sezónnej produkcii citrusov a kvality suroviny použitej na extrakciu. Chemicky získaný limonén nie je opticky čistý, a preto ho nemožno označiť kvalitou „food-grade“¹⁶. Z uvedených dôvodov je otázka biotechnologickej prípravy (+)-limonénu veľmi atraktívna. Doposiaľ neboli objavené mikroorganizmy s prirodzenou nadprodukciou limonénu, preto sa štúdium zameriava na metabolické inžinierstvo. Výhodou je jeho enantiošpecifická syntéza a možnosť zakomponovať do biosyntetickej dráhy limonénu aj jeho následnú oxidáciu na jeden z jeho viacerých cenných oxidatívnych derivátov¹⁵.

2.4. Biotechnologická produkcia limonénu

Biosyntéza všetkých terpenov v organizmoch môže prebiehať jednou z dvoch dráh, mevalonátovou (MVA) dráhou alebo metylerytritol-4-fosfátovou (MEP) dráhou. MVA dráha sa vyskytuje zvyčajne u živočíchov,

v kvasinkách, archaebaktériách, a niektorých G⁺ baktériách, zatiaľ čo MEP dráha je prítomná predovšetkým v baktériách¹⁷. Rastliny si syntetizujú terpeny oboma dráhami, pričom MEP dráha prebieha v plastidoch a MVA dráha v cytosole¹⁵. Posledným krokom biosyntézy limonénu u rastlín je reakcia katalyzovaná limonénsyntázou (LS). V závislosti od zdroja sa tvorí zvyčajne iba jeden izomér limonénu. Nakoľko sa tento enzým nevyskytuje v mikroorganizmoch, pri mikrobiálnej produkcii limonénu je nutná jeho heterológna expresia v host'ovskom organizme¹⁵.

Hlavnými problémami mikrobiálnej produkcie limonénu je komplikovaná metabolická a regulačná sústava obmedzujúca tvorbu izoprenoidov a predovšetkým cytotoxicita samotného produktu. Zatiaľ najčastejšie využívaným a najefektívnejším spôsobom je fermentácia s *in situ* extrakciou produktu pomocou organického rozpúšťadla netoxického pre produkčný organizmus¹⁶.

Maximálna mikrobiálna produkcia limonénu ((-)-izomér) bola zatiaľ popísaná v *E. coli* (3,63 g l⁻¹). Ako zdroj uhlíka slúžil glycerol a biosyntéza prebiehala pomocou heterológne exprimovanej MVA dráhy a LS z *Mentha spicata*¹⁸. Na to, aby tento spôsob produkcie limonénu bol schopný konkurovať súčasnemu spôsobu výroby limonénu, je nutné, aby produktivita procesu bola minimálne na úrovni 0,7 g l⁻¹ h⁻¹ a špecifický výťažok uhlíka v procese predstavoval minimálne 45 % (cit.²). V súčasnosti maximálna produktivita procesu dosahuje len 0,15 g l⁻¹ h⁻¹ a konverzia uhlíka na produkt predstavuje menej ako 1 % (cit.¹⁸).

Alternatívnou možnosťou biosyntézy limonénu sú enzýmové systémy, avšak vzhľadom na vysokú cenu kofaktorov a purifikovaných enzýmov je priemyselne ekonomicky nevýhodná. Takýto systém navrhli Korman a spol.¹⁹ a pozostával z 27 enzýmov umožňujúcich konver-

ziu glukózy až na limonén, pričom v systéme dochádzalo aj k regenerácii potrebných kofaktorov (ATP a NAD(P)H). Produkcia limonénu dosiahla až 12,5 g l⁻¹ (výťažok 88,4 %), pričom systém bol stabilný po dobu 5 dní pri jednom prídavku glukózy¹⁹.

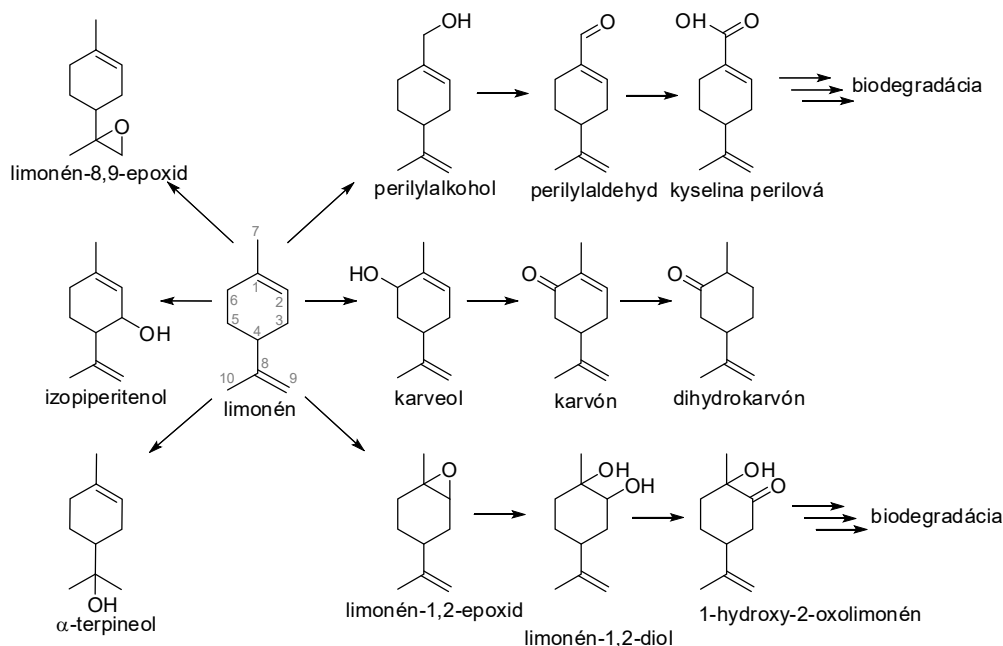
3. Oxidatívne deriváty limonénu

Regiošpecifickou oxidáciou izomérov limonénu je možné získať produkty s vysokou pridanou hodnotou. Ako príklad môžeme uviesť oxidáciu (+)-limonénu na perilylalkohol, karveol, karvón alebo limonén-1,2-diol, ktorých cena prevyšuje hodnotu substrátu aj viac ako 10násobne^{20,21}. V literatúre bolo doteraz popísaných 6 základných dráh jeho biotransformácie v mikroorganizmoch (obr. 1).

Vo všeobecnosti katalyzuje prvý krok oxidácie limonénu hydroxyláza alebo monooxygenáza, ktoré majú zvyčajne rôznu špecifitu v závislosti od zdroja/producenta. Pri hľadaní mikrobiálnych producentov sa kladie dôraz na získavanie enantioselektívnych enzýmov, nakoľko rozdielne enantioméry derivátov limonénu môžu mať rozdielne senzorické vlastnosti, ako je to napr. u izomérov karvónu, ktorého (*R*)-izomér má vôňu mäty, zatiaľ čo (*S*)-karvón má rascovú arómu²².

3.1. Perilylalkohol a kyselina perilová

Oxidáciou metylovej skupiny (+)- alebo (-)-limonénu na uhlíku C₇ vzniká príslušný stereoizomér perilylalkoholu, perilylaldehydu a kyseliny perilovej. Perilylalkohol a kyselina perilová sú zaujímavé najmä kvôli svojim chemopreventívnym a chemoterapeutickým vlastnostiam voči viacerým typom rakovinových buniek^{23,24}.



Obr. 1. Mikrobiálne dráhy biotransformácie limonénu

Mikrobiálna transformácia limonénu na kyselinu perilovú zahŕňa jeho oxidáciu v troch krokoch. Najprv nastáva oxidácia limonénu na perilylalkohol pomocou monooxygenázy. Po nej nasleduje dehydrogenácia na perilylaldehyd a nakoniec je aldehyd oxidovaný na kyselinu perilovú pomocou aldehyddehydrogenázy²⁴.

Pri produkcii perilylalkoholu je dôležité použiť mikroorganizmus schopný selektívne oxidovať limonén na uhlíku C₇, pričom nemôže dochádzať k preoxidácii až na kyselinu perilovú. Spomedzi bakteriálnych izolátov degradujúcich *n*-alkány bolo identifikovaných viacero kmeňov schopných tejto regiošpecifickej oxidácie limonénu. Technikami génového inžinierstva boli postupne zvýšené výťažky perilylalkoholu rekombinantných producentov z 2,3 g l⁻¹ u *Pseudomonas putida* GPO12 (cit.²⁵) až na 5,96 g l⁻¹ pri expresnom systéme *E. coli* W3110 (cit.²⁶).

Transformácia limonénu, pri ktorej sa ako hlavný produkt tvoril perilylalkohol, bola popísaná u mikroorganizmov ako napr. *Aspergillus niger*, *A. cellulosa*, *Mortierella alpina*, *M. minutissima* alebo *Yarrowia lipolytica*²⁷.

Okrem biotransformačnej produkcie perilylalkoholu z limonénu je aj snaha o jeho *de novo* biosyntézu pomocou metabolického inžinierstva. Pomocou *E. coli* boli takto produkované oba jeho izoméry, (*R*)-(+)-perilylalkohol²⁸ aj (*S*)-(-)-perilylalkohol²⁹.

Produkcia kyseliny perilovej je dobre popísaná u *P. putida* GS1 (DSM 12264). Tvorbu kyseliny umožňuje prítomná degradačná dráha *p*-cyménu, aromatickej zlúčeniny štruktúrne podobnej limonénu. Prvé tri enzýmy tejto dráhy sú schopné transformovať aj limonén, pričom vzniká kyselina perilová, ktorú baktéria ďalej nie je schopná metabolizovať a akumuluje sa. Na efektívnejšiu biokonverziu limonénu *P. putida* GS1 vyžaduje ko-substrát, pričom ako najvhodnejší sa ukázal glycerol. Produkcia kyseliny perilovej bola popísaná v prítokovom reaktore s kontinuálnym prídavkom limonénu a glycerolu³⁰, v reaktore s integrovaným *in situ* odstraňovaním produktu na báze iónovej výmeny a prítokom substrátu²⁴, ako aj v kontinuálnom biofilmovom reaktore so segmentovaným tokom média³¹. Poslednou menovanou metódou sa dosiahla maximálna objemová produktivita reaktora až 34 g l⁻¹ d⁻¹.

Kyselina perilová bola produkovaná aj kvasinkou *Y. lipolytica*, pričom okrem limonénu bol použitý ako substrát aj pomarančový olej³².

3.2. Karveol a karvón

Oxidáciou uhlíka C₅ v molekule vzniká karveol a karvón. Karveol sa vyskytuje vo forme 4 stereoizomérov: (1*R*,5*R*)-karveol ((-)-*cis*-izomér), (1*S*,5*R*)-karveol ((-)-*trans*-izomér), (1*R*,5*S*)-karveol ((+)-*trans*-izomér) a (1*S*,5*S*)-karveol ((+)-*cis*-izomér); a karvón vo forme dvoch izomérov, (4*S*)- a (4*R*)-karvónu, označovaných aj (-)- a (+)-karvón. Obe tieto zlúčeniny sú využívané ako aromatické látky v kozmetike a potravinárstve. Tiež boli popísané ich antimikrobiálne vlastnosti, potenciálne aplikácie ako substrát v chemickej syntéze a v medicíne^{33–35}.

Karveol aj karvón sú častými produktmi biologickej

oxidácie limonénu, avšak vo väčšine prípadov sú len jednými z mnohých reakčných produktov. Je to v dôsledku nešpecifickej oxidácie katalyzovanej mikrobiálnymi monooxygenázami a hydroxylázami. Väčšiu regiošpecifitu vykazujú rastlinné enzýmy, napr. limonén-6-hydroxyláza z *Mentha* spp.³⁶. Problémom však je ich veľmi nízka aktivita a problematická aplikácia v priemyselnej praxi.

Regiošpecifická oxidácia limonénu na *trans*-karveol je katalyzovaná kuméndioxygenázou (EC 1.14.13.48) a bola popísaná u baktérii *Rhodococcus opacus*³⁷, viacerých kmeňov *Pseudomonas* sp.³⁸ a *Cellulosimicrobium cellulosum*³⁹. Bunky *R. opacus* a *Pseudomonas* sp. boli schopné transformovať (+)-limonén na (+)-*trans*-karveol iba keď boli počas kultivácie indukované parami toluénu alebo naftalénu, zatiaľ čo u *C. cellulosum* to bola prítomnosť etylbenzénu. Doteraz najvyššia popísaná produkcia *trans*-karveolu je popísaná práve u *C. cellulosum*, a to 13,4 mM po 10 h biotransformácii³⁹.

Gén pre kuméndioxygenázu z *P. putida* bol identifikovaný a naklonovaný do expresného vektora *P. putida* P12 (cit.⁴⁰). Následne bola navrhnutá enzýmová kaskáda na produkciu chirálnych karvolaktónov z (+)-limonénu s potenciálnou aplikáciou vo výrobe biopolymérov⁴¹.

Van der Werf a spol.⁴² však popísali metabolickú dráhu degradácie karveolu u baktérie *Rhodococcus erythropolis* DCL14. Táto baktéria schopná rásť na limonéne začína degradáciu karveolu jeho dehydrogenáciou na karvón, ktorý karvóndehydrogenáza transformuje na dihydrokarvón. Baktéria je touto metabolickou dráhou schopná metabolizovať všetky 4 stereoizoméry karveolu⁴².

Pri biotransformácii zmesi (-)-*cis* a (-)-*trans*-karveolu za použitia buniek *R. erythropolis* DCL14 dochádza iba k transformácii *cis*-izoméru na (-)-karvón, zatiaľ čo *trans*-karveol zostáva v reakčnej zmesi nezreagovaný. Touto biotransformáciou je teda možné získať vzácnu čistú *trans*-formu karveolu⁴³.

3.3. Limonén-1,2-epoxid a limonén-1,2-diol

Degradačná dráha limonénu začínajúca epoxidáciou dvojitej väzby medzi uhlíkmi C₁-C₂ bola prvýkrát identifikovaná a popísaná u baktérii *R. erythropolis*. Reakcia je katalyzovaná FAD- a NADH- závislými monooxygenázami, pri čom vzniká limonén-1,2-epoxid. Ten je následne hydrolyzovaný na limonén-1,2-diol enzýmom limonén-1,2-epoxidhydrolázou. Limonén-1,2-diol je ďalej transformovaný na 1-hydroxy-2-oxolimonén nešpecifickými alkoholdehydrogenázami⁴⁴.

Pozornosť púta predovšetkým enzým limonén-1,2-epoxidhydroláza (LEH, EC 3.3.2.8), ktorý je niekoľkonásobne aktívnejší ako ostatné enzýmy tejto metabolickej dráhy, čím bráni v akumulácii potenciálne toxického epoxidu. Enzým bol purifikovaný a exprimovaný v *E. coli*. Svojou štruktúrou a reakčným mechanizmom sa líši od ostatných epoxidhydroláz a bol preto zaradený do samostatnej skupiny^{44,45}. LEH vykazuje voči svojmu prirodzenému substrátu vysokú stereoselektivitu, pričom je schopná hydrolyzovať všetky 4 stereoizoméry limonén-1,2-diolu⁴⁶. Vďaka svojej vysokej stereoselektivitě, úzkej

substrátovej špecifikite, dobre popísanej štruktúre a reakčnému mechanizmu je LEH z *R. erythropolis* často používaná ako modelový enzým pre rôzne stratégie enzýmového inžinierstva^{47,48}.

Mikrobiálna transformácia limonénu až na limonén-1,2-diol je veľmi dobre charakterizovaná aj u viacerých druhov vláknitých húb. Molina a spol.⁴⁹ popísali biotransformáciu (–)-limonénu na limonén-1,2-diol pomocou vláknitej huby *Fusarium oxysporum*, pričom tvorba epoxidu nebola zaznamenaná, autori však predpokladajú, že táto huba metabolizuje limonén analogickým spôsobom ako baktérie *R. erythropolis*. Maximálna produkcia limonén-1,2-diolu bola 3,7 g l⁻¹ (cit.⁴⁹).

Z hľadiska aplikácie v praxi je zaujímavá transformácia (+)-limonénu na limonén-1,2-diol pomocou vláknitej huby *Colletotrichum nymphae*. Huby z rodu *Colletotrichum* sp. patria medzi fytopatogény a je predpoklad, že v porovnaní s inými mikroorganizmami sú odolné voči toxicite terpenov a vedú ich aj transformovať. Rozsiahlou optimalizáciou kultivačných a reakčných podmienok sa dosiahla maximálna koncentrácia produktu 7,1 g l⁻¹ resp. 7,8 g l⁻¹ po 72 h pri použití 20 g l⁻¹ (+)- alebo (–)-limonénu. Ako substrát mohol byť tiež použitý pomarančový olej^{50,21}.

Produkcia limonén-1,2-epoxidu bola popísaná pomocou enzýmového systému skladajúceho z imobilizovanej lipázy z *Candida antarctica* (frakcia B), karboxylovej kyseliny, peroxidu vodíka a substrátu (+)-limonénu. Optimalizáciou reakčných podmienok a prenesením procesu do 600ml reaktora s postupným prítokom roztoku H₂O₂ sa dosiahol maximálny výťažok limonén-1,2-epoxidu na úrovni 78 % po 60 min (cit.⁵¹).

Limonén-1,2-diol vykazuje inhibičný efekt voči prozápalovým aktivitám CD4+ a CD8+ T-lymfocytov a potenciálne protirakovinové vlastnosti. Môže však byť použitý aj ako atraktant pre hmyz alebo ochucovadlo v potravinárstve²¹. Limonén-1,2-epoxid má veľký aplikačný potenciál ako substrát pre chemickú syntézu a výrobu biopolymérov⁵¹.

3.4. α -Terpineol

Hydroxyláciou limonénu na dvojitej väzbe medzi uhlíkmi C₈-C₉ vzniká terciárny monoterpenoid, α -terpineol. Tento alkohol je hlavnou zložkou viacerých rastlinných esenciálnych olejov, ako napr. majoránu (*Origanum majorana* L.), borovice prímořskej (*Pinus pinaster* Aiton) alebo šalvie muškátovej (*Salvia sclarea* L.). α -Terpineol existuje v dvoch enantiomérnych formách, (R)-(+)- α -terpineol a (S)-(–)- α -terpineol. (R)-(+)- α -terpineol sa vyznačuje príjemnou orgánovou vôňou, zatiaľ čo (S)-(–)- α -terpineol má jemnú vôňu ihličia. Pre svoju príjemnú vôňu je často používaný v kozmetike. Okrem toho má tiež viaceré zaujímavé biologické účinky. Vykazuje antihypertenzívny a antiproliferačný efekt na erytroleukemické bunky, má protizápalové vlastnosti, inhibuje produkciu superoxidov a viaceré štúdie popísali aj jeho protirakovinové účinky^{53–55}.

Mikrobiálna transformácia (+)-limonénu vedie k produkcii (R)-(+)- α -terpineolu, z (–)-limonénu naopak vzniká (S)-(–)- α -terpineol. Prvá biokonverzia limonénu na α -terpineol bola publikovaná už koncom 60. rokov minulého storočia pomocou *Cladosporium* sp., pričom od vtedy bola popísaná u mnohých mikroorganizmov, napr. *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus* sp. alebo *Sphingobium* sp.⁵⁴.

Zaujímavá je predovšetkým biotransformácia limonénu pomocou *F. oxysporum* 152b, pri ktorej sa v aeróbných podmienkach tvorí limonén-1,2-diol⁴⁹, zatiaľ čo v systéme bez prístupu kyslíka vzniká α -terpineol⁵⁵.

Najlepšie výsledky sa dosiahli s baktériou *Sphingobium* sp. kultivovanej na limonéne ako jedinom zdroji uhlíka v médiu. Biotransformáciou (+)-limonénu v dvojfázovom systéme, kde ako organická fáza slúžil slnečnicový olej, vzniklo 130 g l⁻¹ (R)-(+)- α -terpineolu⁵⁶. Ďalšou optimalizáciou podmienok biotransformácie (pH, koncentrácia biomasy, teplota a miešanie) a použitím sójového oleja ako organickej fázy sa produkcia zvýšila až na takmer 240 g l⁻¹ (cit.⁵⁷). Enzým tejto vláknitej huby je navyše enantiošpecifický. Z (+)-limonénu sa tvoril (R)-(+)- α -terpineol v enantiomérnom nadbytku (ee) ≥ 99 %, zatiaľ čo z jeho (–)-izoméru vznikal majoritne (S)-(–)- α -terpineol, ktorého bolo približne 60 % (cit.⁵⁶).

V súčasnosti je α -terpineol produkovaný chemickou syntézou z α -pinénu, terpentínu alebo iných im podobných zlúčenín. Biotechnologická výroba je alternatívna možnosť produkcie, vhodná predovšetkým na produkciu čistých enantiomérov α -terpineolu.

3.5. Izopiperitenol a limonén-8,9-epoxid

Trans-izopiperitenol je derivát limonénu, ktorý vzniká hydroxyláciou na uhlíku C₃. V prírode vzniká ako medziprodukt pri biosyntéze (–)-mentolu v mäte (*Mentha* sp.). Z biotechnologického hľadiska je zaujímavý najmä ako substrát pre chemickú prípravu (–)-mentolu, aromatickej látky používanej v potravinárstve a parfumoch. Biotransformácia (+)-limonénu na *trans*-izopiperitenol v mikroorganizmoch bola dlho popísaná len u huby *Hormonema* sp. UOFS Y-0067. Maximálna produkcia bola 0,5 g l⁻¹, ale výsledky experimentov bolo ťažké reprodukovat⁵⁸. Nedávno boli popísané dve limonén-3-hydroxylázy z *Aureobasidium pullulans* a *Hormonema carpentarium*. Oba enzýmy boli naklonované do expresného vektora *Pichia pastoris* pre zvýšenie produkcie *trans*-izopiperitenolu, avšak jeho maximálna koncentrácia dosiahla hodnotu len 165 mg l⁻¹ (cit.⁵⁹).

Regiošpecifická epoxidácia limonénu na dvojitej väzbe medzi uhlíkmi C₈-C₉ bola popísaná len u baktérie *Xanthobacter* sp. kultivovanej na cyklohexáne. Túto reakciu katalyzuje cytochróm P-450 monooxygenáza. Z experimentov sa zistilo, že (+)-limonén ((4R)-izomér) je transformovaný na (4R)-limonén-8,9-epoxid, a z (–)-limonénu ((4S)-izomér) sa tvorí zmes izomérov (4S,8R)- a (4S,8S)-limonén-8,9-epoxidu v pomere 78:22. Optimalizáciou reakčných podmienok bolo možné získať 0,8 g l⁻¹

limonén-8,9-epoxidu, pri vyšších koncentráciách sa prejavila výrazná inhibícia produktom⁶⁰.

4. Záver

Terpény sú vďaka svojej unikátnej štruktúre dobrým východiskovým materiálom pre syntézu veľkého počtu špeciálnych chemikálií s využitím v potravinárskom, farmaceutickom, kozmetickom či materiálovom priemysle. (+)-Limonén je najviac zastúpený monocyklický monoterpén v prírode a jeho najväčším zdrojom je olej z citrusovej kôry. Výrobu limonénu a následne jeho biotransformáciu na oxidatívne deriváty možno považovať za biotechnologické procesy v súlade s hodnotami trvalo udržateľného rozvoja. Medzi výhody spojené s týmito bioprocami patrí použitie vedľajších produktov ako surovín, mierne reakčné podmienky, vysoká regio- a stereoselektivita a výroba produktov s pridanou hodnotou. Táto štúdia predstavuje nové metódy prípravy a perspektívne aplikácie menej známych látok, ktoré je možné pripraviť biotechnologickými transformáciami limonénu s využitím mikroorganizmov.

Práca bola finančne podporená prostriedkami z grantu VEGA č. 2/0130/20.

LITERATÚRA

- Lange B. M., v knihe: *Biotechnology of Isoprenoids* (Schrader J., Bohlmann J., ed.), kap. 11, str. 63. Springer International Publishing, Cham 2015.
- Sun C., Theodoropoulos C., Scrutton, N. S.: *Bioresour. Technol.* 300, 122666 (2019).
- <https://www.ecfr.gov/cgi-bin/retrieveECFR?gp=1&SID=94972716e6befdcc1c3606666829f4e5&ty=HTML&h=L&mc=true&n=pt1.6.582&r=PART>, stiahnuté 19. 4. 2021.
- Vieira A. J., Baserra F. P., Souza M. C., Totti B. M., Rozza A. L.: *Chem.-Biol. Interact.* 283, 97 (2018).
- Ciriminna R., Lomeli-Rodriguez M., Demma Cará P., Lopez-Sanchez J. A., Pagliaro M.: *Chem. Commun.* 50, 15288 (2014).
- Erasto P., Viljoen A. M.: *Nat. Prod. Commun.* 3, 1193 (2008).
- Kim Y. W. a 13 spoluautorov: *J. Toxicol. Environ. Health, Part B* 16, 17 (2013).
- De Groot A.: *Dermatitis* 30, 331 (2019).
- Nazaroff W. W., Weschler C. J.: *Atmos. Environ.* 38, 2841 (2004).
- Hollingsworth R. G.: *J. Econ. Entomol.* 93, 772 (2005).
- Cruz Moura I., Wunderlich G., Uhrig M. L., Couto A. S., Peres V. J., Katzin A. M., Kimura E. A.: *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 2553 (2001).
- Pereira C. V., Silva J. M., Rodrigues L., Reis R. L., Paiva A., Duarte A. R. C., Matias A.: *Sci. Rep.* 9, 14926 (2019).
- Calabrò P. S., Pontoni L., Porqueddu I., Greco R., Pirozzi F., Malpei F.: *Waste Manage. (Oxford, U. K.)* 48, 440 (2016).
- Pourbafrani M., Forgács G., Sárvári Horváth I., Niklasson C., Taherzadeh M. J.: *Bioresour. Technol.* 101, 4246 (2010).
- Jongedijk E., Cankar K., Buchhaupt M., Schrader J., Bouwmeester H., Beekwilder J.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100, 2927 (2016).
- Ren Y., Liu S., Jin G., Yang X., Zhou Y. J.: *Biotechnol. Adv.* 44, 107628 (2020).
- Mikš-Krajník M., Zoglowek M., Buron-Moles G., Forster J., v knihe: *Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids: Production of Fuels and Chemicals* (Lee S., ed.), kap. 12, str. 403, Springer, Cham 2017.
- Rolf J., Julsing M. K., Rosenthal K., Lütz S.: *Molecules* 25, 1881 (2020).
- Korman T. P., Oppenorth P. H., Bowie J. U.: *Nat. Commun.* 8, 15526 (2017).
- Felipe L. de O., Oliveira A. M., Bicas J. L.: *Trends Food Sci. Technol.* 62, 141 (2017).
- Sales A., Moreira R. C., Pastore G. M., Bicas J. L.: *Process Biochem.* 78, 8 (2019).
- De Carvalho C. C. C. R., da Fonseca M. M. R.: *Biotechnol. Adv.* 24, 134 (2006).
- Chen T. C., da Fonseca C. O., Schöenthal A. H.: *Am. J. Cancer Res.* 5, 1580 (2015).
- Mirata M. A., Heerd D., Schrader J.: *Process Biochem.* 44, 764 (2009).
- Van Beilen J. B., Holtackers R., Lüscher D., Bauer U., Witholt B., Duetz W. A.: *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 1737 (2005).
- Cornelissen S., Julsing M. K., Volmer J., Riechert O., Schmid A., Bühler B.: *Biotechnol. Bioeng.* 110, 1282 (2013).
- Prieto G. A. S., Perea Y. A. V., Ortiz C. L.: *Biotechnol. Sect. Agropecu. Agroind.* 12, 36 (2014).
- Sun C., Dong X., Zhang R., Xie C.: *BMC Biotechnol.* 21, 3 (2021).
- Alonso-Gutierrez J., Chan R., Batth T. S., Addams P. D., Keasling J. D., Petzold C. J., Lee T. S.: *Metab. Eng.* 19, 33 (2013).
- Mars A. E., Gorissen J. P. L., van den Beld I., Eggink G.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56, 101 (2001).
- Willrodt C., Hala B., Karthaus L., Rehdorf J., Buehler K., Schmid A.: *Biotechnol. Bioeng.* 114, 281 (2016).
- Tappin M. R. R., Knopp F. M., Cardos I. C., Santos R. T., Drummond B. S., Siani A. C., Bon E. P. S., Ferrara M. A.: *Green Sustainable Chem.* 7, 172 (2017).
- De Carvalho C. C. R., da Fonseca M. M. R.: *Food Chem.* 95, 413 (2006).
- Nesterkina M., Barbalat D., Konovalova I., Shishkina S., Atakay S., Salih B., Kravchenko I.: *Nat. Prod. Res.* 35, 4978 (2020).
- De Cássia da Silveira e Sá N., Arande L. N., de Sousa D.: *Molecules* 18, 1227 (2013).
- Lupien S., Karp F., Wildung M., Croteau R.: *Arch. Biochem. Biophys.* 368, 181 (1999).

37. Duetz W. A., Fjällman A. H. M., Ren S., Jourdat C., Witholt B.: *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 2829 (2001).
 38. Duetz W. A., Witholt B., Jourdat C.: *PCT Int. Appl. WO 02 38785*.
 39. Wang Z., Lie F., Lim E., Li K., Li Z.: *Adv. Synth. Catal.* **351**, 1849 (2009).
 40. Groeneveld M., van Beek H. L., Duetz W. A., Fraaije M. W.: *Tetrahedron* **72**, 7263 (2016).
 41. Oberleitner N., Ressmann A. K., Bica K., Gärtner P., Fraaije M. W., Bornscheuer U. T., Rudroff F., Mihovilovic M. D.: *Green Chem.* **19**, 367 (2016).
 42. Van der Werf M. J., Boot A. M.: *Microbiology* **146**, 1129 (2000).
 43. De Carvalho C. C. C. R., van Keulen F., da Fonseca M. M. R.: *Tetrahedron: Asymmetry* **13**, 1637 (2002).
 44. Van der Werf M. J., Swarts H. J., de Bont J. A. M.: *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 2092 (1999).
 45. Arand M., Hallberg B. M., Zou J., Bergfors T., Oesch F., van der Werf M. J., de Bont J. A. M., Jones T. A., Mowbray S. L.: *EMBO J.* **22**, 2583 (2003).
 46. Van der Werf M. J., Orru R. V. A., Overkamp K. M., Swarts H. J., Osprian I., Steinreiber A., de Bont J. A. M., Faber K.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **52**, 380 (1999).
 47. Zheng H., Reetz T. M.: *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 15744 (2010).
 48. Sun Z., Wu L., Bocola M., Chan H. C. S., Lonsdale R., Kong X.-D., Yuan S., Zhou J., Reetz T. M.: *J. Am. Chem. Soc.* **140**, 310 (2018).
 49. Molina G., Bution M. L., Bicas J. L., Dolder M. A. H., Pastore G. M.: *Food Chem.* **174**, 606 (2015).
 50. Sales A., Pastore G. M., Bicas J. L.: *Process Biochem.* **86**, 25 (2019).
 51. Melchioris M., Vieira T. Y., Pereira L. P. S., Carciofi B. A. M., de Araújo P. H. H., de Oliveira D., Sayer C.: *Ind. Eng. Chem. Res.* **58**, 13918 (2019).
 52. Parrino F., Fidalgo A., Palmisano L., Ilharco L. M., Ciriminna R.: *ACS Omega* **3**, 4884 (2018).
 53. Khaleel C., Tabanca N., Buchbauer G.: *Open Chem.* **16**, 349 (2018).
 54. Sales A., Felipe L. de O., Bicas J. L.: *Food Bioprocess Technol.* **13**, 1261 (2020).
 55. Bicas J. L., Barros F. F. C., Wagner R., Teixeira Godoy H., Pastore G. M.: *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **35**, 1061 (2008).
 56. Bicas J. L., Fontanille P., Pastore G. M., Larroche C.: *Process Biochem.* **45**, 481 (2010).
 57. Molina G., Pessôa M. G., Bicas J. L., Fontanille P., Larroche C., Pastore G. M.: *Bioresour. Technol.* **294**, 122180 (2019).
 58. Van Dyk M. S., van Rensburg E., Moleleki N.: *Biotechnol. Lett.* **20**, 431 (1998).
 59. Schempp F. M., Strobel M., Etschmann E., Bierwirth E., Panten J., Schewe H., Schrader J., Buchhaupt M.: *Appl. Environ. Microbiol.* **87**, e02873 (2021).
 60. Van der Werf M. J., Keizer P. M., van der Schaft P. H.: *J. Biotechnol.* **84**, 133 (2000).
 61. Filipsson A., Bard J., Karlsson S., World Health Organization, International Programme on Chemical Safety. (1998), <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42039>, stiahnuté 20. 12. 2021.
 62. <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID1020778>, stiahnuté 20. 12. 2021.
 63. <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID6047078>, stiahnuté 20. 12. 2021.
 64. <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID2029612>, stiahnuté 20. 12. 2021.
 65. Massaldi H. A., King C. J.: *Chem. Eng. Data* **18**, 393 (1973).
- K. Kaniaková, H. Hronská, D. Šilhárová, and M. Rosenberg** (*Institute of Biotechnology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava, Slovak Republic*): **Limonene and Its Oxidative Derivates: Properties, Applications and Biotechnological Production**
- In this review, we collected and presented evidence from the scientific literature regarding the biotechnological production and applications of limonene and its oxidative derivatives in various fields such as food, pharmaceutical, cosmetic or polymer industries. Limonene biotransformations may be regarded as biotechnological processes aligned to sustainable development. Advantages associated with these bioprocesses include the use of by-products as raw materials, mild reaction conditions, high regio- and stereoselectivity and the production of value-added products. The biological activities of limonene and its oxidative derivatives, such as carveol, carvone, limonene-1,2-diol, α -terpineol, or perillyl alcohol, suggest that the terpene biotechnology is becoming a promising and prosperous science.
- Keywords:** limonene, oxidative derivatives, applications, biotransformation, biological activity
- Kaniaková K., Hronská H., Šilhárová D., Rosenberg M.: *Chem. Listy* **116**, 301–307 (2022).
 ● <https://doi.org/10.54779/chl20220301>
- Acknowledgements*
 This work was supported by grant VEGA no. 2/0130/20.

FYTOSTEROLY A STERYLGLYKOZIDY V POSTFERMENTAČNOM KUKURIČNOM OLEJI A ICH VPLYV NA KVALITU BIOPALÍV

MÁRIA HOLÍČKOVÁ^a, PETRA ONDREJÍČKOVÁ^b,
VALENTÍNA KAFKOVÁ^a a VERONIKA
CYPRICHOVÁ^b

^a Združenie Energy 21, Trnavská cesta 1033, Leopoldov 920 41, ^b Centrum výskumu a vývoja, s.r.o., Trnavská cesta 1033/7, Leopoldov 920 41, Slovenská republika
kafkova@enviengroup.eu

Došlo 21.6.21, prepracované 14.3.22, prijaté 22.3.22.

Kľúčové slová: biopalivá, sterylglukozidy, nízkoteplotné vlastnosti, precipitát, kukuričný olej, fytosteroly

● <https://doi.org/10.54779/chl20220365>

Obsah

1. Úvod
2. Vlastnosti fytosterolov a sterylglukozidov, ich vplyv na vlastnosti bionafty
 - 2.1. Vlastnosti fytosterolov
 - 2.2. Vlastnosti sterylglukozidov
 - 2.3. Vplyv sterylglukozidov na nízkoteplotné vlastnosti bionafty
3. Detekcia fytosterolov a sterylglukozidov v olejoch a návrhy ich redukcie
 - 3.1. Zastúpenie fytosterolov a sterylglukozidov v surovom kukuričnom oleji
 - 3.2. Distribúcia fytosterolov a sterylglukozidov pri predúprave kukuričného oleja a spracovaní na biopalivo
 - 3.2.1. Konvenčné postupy rafinácie oleja
 - 3.2.2. Inovatívne postupy na odstránenie SG
4. Záver

1. Úvod

Bionafta, resp. biodiesel (FAME – zmes metylesterov mastných kyselín) patrí do kategórie ekologických palív syntetizovaných najmä transesterifikáciou z obnoviteľných zdrojov energie (väčšinou z oleja poľnohospodárskeho pôvodu), vhodných pre naftové (spaľovacie) motory. FAME prispieva k zníženiu emisií CO₂ v atmosfére až o 70 % oproti fosílnym palivám¹. Konkrétny druh používanej suroviny na výrobu oleja používaného na výrobu bionafty súvisí so socio-ekonomickými aspektami a klimatickými podmienkami danej oblasti² a dostupnou výrobnou

technológiou. Na Slovensku a v ČR sa bionafta vyrába najmä spracovaním repkového oleja alebo zmesi oleja spolu s post-fermentačným kukuričným olejom, slnečnicovým olejom, použitým kuchynským olejom alebo živočíšnymi tukmi, pričom hlavnou zložkou zmesi zostáva repkový olej³. Úplné zloženie bionafty ako aj jej vlastnosti závisia predovšetkým od zloženia vstupného mixu surovín, ktoré sa navzájom môžu líšiť zastúpením mastných kyselín a ich derivátov⁴. Surovina použitá pri výrobe bionafty môže obsahovať zložky znižujúce kvalitu bionafty, ktoré spôsobujú niekoľko procesných a transportných problémov spojených s relatívne vysokou teplotou tuhnutia v porovnaní s fosílnou naftou². Existuje úsilie o elimináciu týchto nežiaducich zložiek z bionafty úpravou suroviny alebo čistením bionafty.

Steryglukozidy (SG) a glyceridy sa považujú za dve hlavné skupiny chemických látok, ktoré iniciujú tvorbu zrazeniny v bionafte a tým znižujú nízkoteplotné vlastnosti, napr. filtrovateľnosť^{5,6} a stabilitu bionafty.

Tento referát predstavuje základné informácie o fytosteroloch a SG v olejoch, so zameraním na post-fermentačný kukuričný olej, ktorý je lokálne dostupný vzhľadom na priemyselné spracovanie kukurice na bioetanol a súčasne má výrazne vyšší obsah fytosterolov v porovnaní s inými olejmi dostupnými na Slovensku⁷, a popisuje vybrané spôsoby odstraňovania SG z rastlinných olejov a bionafty.

2. Vlastnosti fytosterolov a sterylglukozidov, ich vplyv na vlastnosti bionafty

Steroly zohrávajú v rastlinných bunkách (fytoosteroly) významnú úlohu (regulačná, rastová, morfológická funkcia)⁵. V rastlinách sa nachádzajú voľné steroly, konjugované steroly vo forme sterylých esterov, sterylglukozidov a acyl-sterylglukozidov, ktoré sa navzájom líšia charakterom bočného reťazca a počtom a polohou dvojitých väzieb⁸. Steryglukozidy sú deriváty fytosterolov a glukózy vyskytujúce sa vo forme acyl-sterylglukozidu (ASG) alebo ako voľné sterylglukozidy⁹. Ich obsah v rastlinných olejoch je tiež spravidla v desiatinách percenta¹⁰.

Fytoosteroly (FS) a ich estery tvoria prirodzenú súčasť prírodných tukov a olejov, kde ich obvyklý obsah zvyčajne predstavuje len niekoľko desiatin percenta a tvorí hlavnú zložku nezmydeliteľného podielu^{11,12}. Zložky nezmydeliteľného podielu môžu ovplyvňovať samotný proces výroby bionafty¹³ alebo výslednú kvalitu bionafty⁹.

2.1. Vlastnosti fytosterolov

Fytoosteroly sú prirodzené sa vyskytujúce bezfarebné kryštalické zlúčeniny s pomerne vysokým bodom topenia

a malou optickou otáčavosťou, ktoré sú štrukturálne podobné cholesterolom, no majú odlišné konfigurácie bočného reťazca. V rastlinných olejoch je prítomná zmes niekoľkých sterolov, z ktorých je najrozšírenejší β -sitosterol, kampesterol a sitostanol. Menej rozšírené sú stigmasterol, ergosterol, brassikasterol¹⁴. Fytosteroly rozdeľujeme na voľné a viazané alicyklické alkoholy. Fytosteroly majú bočný reťazec zložený z 9 alebo 10 atómov uhlíka, z celkového počtu 28 alebo 29 atómov uhlíka. Alkylový bočný reťazec môže tiež obsahovať dvojitzú väzbu¹⁵. Tieto steroly sa hydrogenáciou menia na fytostanoly. Fytosteroly a fytostanoly sú tuhej prachovitej konzistencie s vysokou teplotou topenia^{14,16}. Nie sú rozpustné vo vode a metanole, ale sú rozpustné v acetóne a etylacetáte, v chloroforme, dietyléteri a horúcom etanole. S kyselinou octovou ľahko tvoria kryštalické octany, z digitoninom nerozpustné adičné zlúčeniny a so zmesou acetanhydridu a kyseliny octovej tvoria červené sfarbenie (tzv. Liebermann-Burchardova reakcia)¹⁷.

Fytostanoly a estery fytosterolov sú chemicky stabilné materiály s porovnateľnými chemickými a fyzikálnymi vlastnosťami ako jedlé tuky a oleje¹⁵. Fytosteroly sa komerčne izolujú z rastlinných olejov, ako je sójový olej, repkový olej, slnečnicový olej alebo kukuričný olej¹⁴. Voľné steroly sú dobre rozpustné v bionafta na rozdiel od viazaných sterolov, napr. sterylglukozidov, ktoré sú nerozpustné².

2.2. Vlastnosti sterylglukozidov

Z chemického hľadiska sú sterylglukozidy glykolipidy, ktoré pozostávajú z rastlinného sterolu glykozidicky viazaného na molekulu glukózy¹⁸. Molekulová hmotnosť SG je v priemere 576 g mol⁻¹. Teplota topenia SG sa pohybuje v rozmedzí 240–290 °C. SG sú rozpustné v organických rozpúšťadlách¹⁹ a obmedzene rozpustné vo FAME: vytvárajú vrstvu medzi FAME a glycerínom po transesterifikácii²⁰. V čerstvej bionafta sú dobre rozpustné, časom pomaly kryštalizujú^{6,21}. Niektoré štúdie ukazujú, že

ich rozpustnosť sa zvyčajne pohybuje v rozmedzí 10–20 mg kg⁻¹ pri izbovej teplote^{6,21,22}. Vo vyšších koncentráciách sú nerozpustné a po niekoľkých dňoch sa začínajú uvoľňovať z roztoku, viazať na seba iné nečistoty a sedimentovať na dne nádrže. V oleji sa SG väčšinou nachádzajú v rozpustnej acylovanej forme ASG (masťná kyselina je estericky viazaná na alkoholovú funkčnú skupinu v molekule glukózy). V dôsledku hydrolyzy počas transesterifikačného procesu výroby biopalív sú tieto masťné kyseliny odstraňované počas alkalických procesov a dochádza k hromadeniu málo rozpustných sterylglukozidov²³, preto je vo všeobecnosti prítomnosť ASG v oleji, resp. SG v biopalive nežiadúca.

2.3. Vplyv sterylglukozidov na nízкотеплотné vlastnosti bionafty

Vo všeobecnosti, bionafta môže spôsobovať viaceré procesné aj transportné problémy najmä pri preprave potrubnými systémami, či cisternami pri nízkych vonkajších teplotách⁹, ktoré súvisia s jeho relatívne vysokým bodom topenia v porovnaní s komerčnými fosílnymi palivami (tab. I).

Množstvo SG prítomných vo výslednej bionafta je teda podmienené nielen typom zdrojového rastlinného oleja s individuálnym spektrom masťných kyselín, ktorý bol použitý na výrobu bionafty, ale aj spôsobom predúpravy oleja, spôsobom spracovania FAME, intenzitou miešania, teplotou a dĺžkou skladovania⁶.

Počas výroby bionafty transesterifikáciou klesá polarita rozpúšťadla (TAG) s tým, ako sa TAG premieňa na FAME. Zároveň narastá polarita SG, ktoré vznikajú z menej polárnych ASG, čím môže dôjsť k vzniku kryštálov a zrazenín v bionafta²⁰. SG sú považované za rozptýlené jemné tuhé častice, ktoré už pri množstve 35 mg kg⁻¹ podporujú kryštalizáciu ostatných látok v biopalive²³, časom vytvárajú sedimenty v bionafta, čo môže zvyšovať prevádzkové náklady skladovania a logistiky a môžu zhoršovať vlastnosti vyrobeného biopaliva.

Tabuľka I

Porovnanie nízкотеплотných vlastností FAME z rastlinných olejov, živočíšnych tukov a dieslového paliva

Druh suroviny použitej na výrobu FAME	Bod zákalu [CP, °C]	Bod tuhnutia [PP, °C]	CFPP [°C]	Obsah SG [mg kg ⁻¹]
Canola	-3	-4	-4	18
Kukuričný olej	-3	-4	-7	480
Palmový olej	14	14	12	140
Repkový olej ^a	-3	-9	-9	–
Sójový olej	0	-2	-2	25–270
Slnečnicový olej	2	-3	-2	18
Tuk z hydiny	4	6	1	–
Použité živočíšne tuky	8	6	1	–
Diesel	-31	-46	-42	–

^a <5 hm. % kys. erukovej; Zdroj: Dunn⁹

Dĺžka skladovania biopaliva vplýva na postupnú kryštalizáciu málo rozpustných SG na nerozpustné aglomeráty spôsobujúce dnové usadzovanie SG pri skladovaní.

Rovnako skladovanie pri nízkych teplotách zhoršuje vlastnosti paliva, prípadne vyvolávajúce prevádzkové problémy⁹.

Zákal bionafty môže vzniknúť aj pri izbovej teplote už pri koncentrácii voľných SG v rozmedzí 10–90 mg kg⁻¹ (cit.⁹). Podľa výskumu Bondioliho a spol.²⁰ už po siedmich dňoch skladovania bionafty z palmového oleja bolo dnovým usadzovaním množstvo SG znížené o viac ako 65 % (skladovanie pri 20 °C).

Prítomnosť vlhkosti môže komplikovať skladovacie problémy, pretože monoacylglyceroly aj diacylglyceroly majú amfifilnú povahu a môžu interagovať s vodou. Miešaním s nepolárnym (hydrofóbnym) podielom klesá rozpustnosť, čo môže spôsobiť urýchlenie zrážania. Tieto častice usadené na dne skladovacej nádrže môžu spôsobiť obmedzenie prietoku alebo upchatie filtrov v rozprašovačoch paliva vo vozidlách pri nízkych teplotách⁹. Napriek viacerým dostupným štatistikám, presná limitná koncentračná hodnota ASG a SG stanovená nie je, resp. rôzne zdroje ju uvádzajú rôzne²³.

Ako vidno z tab. I, jednoznačná korelácia medzi obsahom SG a *medznou teplotou filtrovateľnosti* (CFPP) nie je preukázaná. Spektrum voľných mastných kyselín (FFA) a obsah nezreagovaných acylglycerolov má na CFPP oveľa významnejší vplyv. Najmä etylestery mastných kyselín prítomné v KO, ktoré predstavujú viac ako 2 hm.% z celkového množstva esterifikovaných mastných kyselín, a ich fyzikálno-chemické vlastnosti sú zodpovedné za zvýšenú kinematickú viskozitu, ktorá narastá úmerne s dĺžkou uhlíkovodíkového reťazca zlúčeniny. To znamená, že etylestery sú viskóznejšie – menej tečúce pri nížkej teplote – ako metylestery²⁴.

Cetánové číslo je pre etylester vyššie a bod zákalu nižší ako pre metylestery mastných kyselín, takisto kvôli dĺžke ich reťazca²⁵.

3. Detekcia fytosterolov a sterylglukozidov v olejoch a návrhy ich redukcie

Voľné fytosteroly dominujú v sójovom (0,24–0,45 %, cit.²⁶), olivovom a slnečnicovom oleji⁸. Slnečnicový olej

bežne obsahuje 0,34 % voľných sterolov a 0,28 % esterifikovaných sterolov¹⁰. Zastúpenie fytosterolov v olejoch sa značne mení, na čo poukazuje tab. II, v rámci štúdie zloženia rôznych druhov oleja. Variabilita v obsahu a zložení fytosterolov je podmienená spôsobom spracovania suroviny na výrobu oleja ako aj typom odrody²¹.

Post-fermentačný kukuričný olej (KO) je získavaný ako vedľajší produkt výroby bioetanolu z kukurice a je spracovávaný ako súčasť vstupného surovinového mixu pre produkciu bionafty. Pre možné primiešavanie KO ako pokročilej suroviny do surovinového mixu je nevyhnutné analyzovať obsah FS, príp. SG v surovom KO a ich distribúciu počas jednotlivých krokov predúpravy kukuričného oleja a výrobného procesu metylesteru z KO a KO(MEFA) – produkt kyslej esterifikácie KO. Je dôležité zdôrazniť, že profil a zloženie KO úzko súvisí s typom kukurice, s klimatickými podmienkami a sezónou pestovania¹⁶. Z toho vyplýva široký koncentračný rozsah a nutnosť analýzy týchto parametrov.

3.1. Zastúpenie fytosterolov a sterylglukozidov v surovom kukuričnom oleji

Fytosteroly sa nachádzajú vo všetkých prírodných tukoch a olejoch a zvyčajne tvoria hlavnú zložku nezmydeliteľného podielu. V analyzovanom kukuričnom oleji bol preukázaný 2,6% obsah nezmydeliteľných látok, ktoré sa považujú za zdroj vzniku tuhých častíc pri destilácii a výrobe bionafty. Na základe dostupných analýz surový kukuričný olej obsahuje celkovo 1,5–2 % fytosterolov, z čoho sa 50 % vyskytuje v inej ako voľnej forme²⁷. Analýzy vykonané pred a po zmydlení oleja kvantifikovali voľné a celkové množstvo sterolov. Súčet identifikovaných voľných sterolov v priamej analýze KO sa pohyboval v rozmedzí 5,7–8,4 g kg⁻¹. Tieto hodnoty sa po zmydlení viac ako zdvojnásobili (15,8–17,9 g kg⁻¹), čo naznačuje, že najmenej 50 % sterolov bolo vo viazanej forme²⁷.

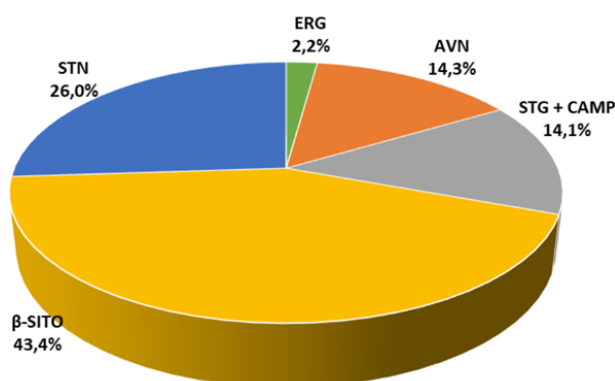
Beta-sitosterol, sitostanol, stigmasterol + kampesterol a ergosterol sú steroly identifikované v post-fermentačnom kukuričnom oleji na základe porovnania retenčných časov a UV spektrier s čistými štandardmi (obr. 1)²⁷. Výsledky HPLC-DAD a LC-MS/MS analýzy²⁷ potvrdili aj prítomnosť SG v surovom KO v množstve 110–120 mg kg⁻¹ (cit.⁷).

Tabuľka II

Typické zastúpenie fytosterolov (FS) a sterylglukozidov (SG) vo vybraných druhoch rastlinných olejov a v biodiesli vyrobenom z nich (mg kg⁻¹)

	Obsah [mg kg ⁻¹]	Kukurica	Repka	Sója	Palma	Slnečnica
Komerčný olej	FS	11 800	6100	3600	2600	2100–4540
	SG	500	200 (cit. ²¹)	>2300 (cit. ⁹)	>2300 (cit. ⁹)	200 (cit. ⁹)
Biodiesel	SG	480	18 (cit. ⁶)	25–270	140	18 (cit. ⁶)

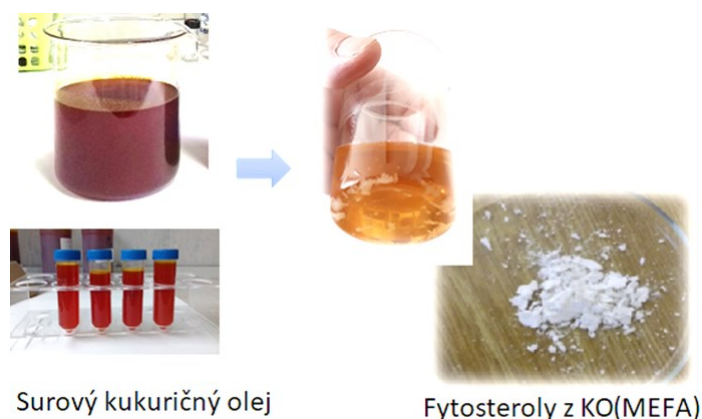
Zdroj: Tang⁶, Bondioli²⁰, Haupt²¹, Dunn⁹, Tang⁸



Obr. 1. Relatívne pomery jednotlivých skupín fytosterolov identifikovaných v post-fermentačnom kukuričnom oleji; hodnoty sú priemerom dlhodobého sledovania kvality oleja. (STN – sitostanol, ERG – ergosterol, AVN – avenasterol, STG – stigmasterol, CAMP – kampesterol, β-SITO – beta-sitosterol)⁷

3.2. Distribúcia fytosterolov a serylglykozidov pri predúprave kukuričného oleja a spracovaní na biopalivo

V surovom KO sa steroly môžu vyskytovať vo vyšších vyššie spomenutých formách. Vo voľnej forme sú hydrofóbne, takmer nerozpustné vo vode a čiastočne rozpustné v tukoch. V esterifikovanej forme ako seryllestery sú v tukoch aj vo FAME rozpustné. Počas transesterifikácie dochádza k hydrolýze týchto esterov a stávajú sa z nich voľné steroly – nerozpustné látky, ktoré postupne kryštalizujú vo FAME (cit.¹⁴), v prípade použitia kukuričného oleja ako vstupnej suroviny v produkte transesterifikácie (metylestery kukuričného oleja) a vo vzniknutom produkte kyslej esterifikácie FFA fázy kukuričného oleja – KO (MEFA), obr. 2, cit.²⁸.



Obr. 2. Vstupný olej – post fermentačný kukuričný olej a separované prečistené fytosteroly z výsledného produktu kyslej esterifikácie KO(MEFA)

3.2.1. Konvenčné postupy rafinácie oleja

Rafinácia oleja sa konvenčne uskutočňuje vo viacerých krokoch: odslizovanie – odstránenie nerozpustných látok, neutralizácia – odstránenie FFA, sušenie – odstránenie vody, filtrácia – odstránenie nežiadúcich tuhých častíc, bielenie – odstránenie farebných látok, dezodorizácia – odstránenie pachových látok a prchavých kyselín. Výskumy Bondiolioho a spol.²⁰ poukazujú na to, že úplná fyzikálna rafinácia bionafty umožňuje odstraňovanie SG v postačujúcej miere. Bieliaca hlinka sa používa na adsorpciu polárnych zlúčenín. Štúdia zároveň zistila, že v procese výroby bionafty dochádza v každom kroku k postupnému odstraňovaniu malého množstva SG. Naopak vplyv dezodorizácie na obsah SG bol vylúčený. Dezodorizáciou je však možné odstrániť až 24 % FS z celkového obsahu FS v surovom kukuričnom oleji. V rámci každého kroku rafinácie dochádza k odstraňovaniu určitého množstva FS a SG, čím sa zlepšujú vlastnosti výsledného produktu⁷. Výskum Tang a spol.⁶ ukazuje, že odstraňovanie SG z bionafty prebieha s väčšou efektivitou za zníženej teploty (až do $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$) a pri dlhšom čase skladovania. Ich výsledky odporujú niektorým tvrdeniam Bondiolioho a spol.²⁰, keďže v štúdiu preukázali pozitívny vplyv vodného degummingu (odslizenie) a destilácie na zníženie koncentrácie SG v bionaftě.

Odstránením týchto látok počas rafinačného procesu by sa zabezpečilo čiastočné vyriešenie technologických problémov v rafinériách. Výskum ukazuje, že napríklad rafinovaný sójový olej obsahuje až o 76 % menej SG ako surový sójový olej (pokles z 272 mg kg^{-1} na 64 mg kg^{-1})²⁹. Zároveň so stúpajúcou intenzitou extrakcie oleja stúpa aj pravdepodobnosť zvýšeného obsahu SG a ASG v surovom oleji. V lisovanom repkovom oleji bola takmer vždy zistená podstatne nižšia koncentrácia SG a ASG (cit.²¹).

3.2.2. Inovatívne postupy na odstránenie SG

Okrem vyššie uvedených postupov je možné zaradiť do procesu technologické zariadenia zahrievania, studenej filtrácie, ultrafiltrácie alebo membránového čistenia, ktoré

môžu odstraňovať SG s vyššou účinnosťou. Vplyv zahrievania surového oleja s cieľom znížiť obsah FS skúmali Thanh a spol.³⁰ Záver ich štúdie ukazuje, že zahriatie surového oleja na teplotu 200 °C po dobu 1 h spôsobilo zníženie množstva FS voči referencii až o polovicu (50–60 %). Steroly a prakticky aj SG pri týchto podmienkach oxidujú; vznikajúce peroxidy sa rozkladajú na menšie fragmenty. Podľa štúdie Na-Ranong a spol.³¹ je možné SG z bionafty odstraňovať aj ich adsorbovaním na magnéziovej silici, kedy za podmienok experimentu (65–80 °C; 1 hm.% MS) bolo odstránených 81,4–82,5 % SG. Okrem SG došlo aj k odstráneniu mono-, di- a triacylglyceridov, ktorých množstvo bolo v závislosti od obsahu SG znížené o 11–13 %. Autori Tremblay a Montpetit³² na odstraňovanie SG z FAME používali ultrafiltráciu. FAME pochádzalo z odslieneného (degumovaného) sójového oleja. Najväčšia miera filtrácie bola dosiahnutá pri použití 0,7 hm.% katalyzátora (metanolát sodný) a pomeru metanolu a oleja 4:1; množstvo odseparovaných SG bolo 86 %. Uvedené výsledky boli odôvodnené tým, že prítomnosť katalyzátora vo FAME spôsobuje deprotonizáciu SG, ktoré sa stávajú menej rozpustné vo FAME a viac rozpustné v polárnej fáze, k čomu dochádza, až pokiaľ sa hodnota pH polárnej fázy (metanol/glycerol) nevyrovná hodnote pKa sterylglukozidov (pKa (stigmasterylglukozid) = 12,21)³². Využitie týchto ďalších rafinačných postupov však znamená zvýšenie počiatočných a prevádzkových nákladov na rafinovanie oleja, resp. bionafty.

Vrstvu SG nie je možné odstrániť práním vodou²⁰, nakoľko v nej pri bežných neutrálnych podmienkach nie sú rozpustné. Všeobecne SG je možné štiepiť na glukózu a steroly pomocou silných anorganických (kys. sírová, chlorovodíková, fosforečná), či organických (kys. sulfónová) kyselín³³, prípadne silno kyslých ionexov (katexov). Následne je možné glukózu vyprať vodou a steroly oddestilovať od FAME.

Využitie špecifických enzýmov, najmä β -glukozidáz, a enzymatickej modifikácie kvality vstupnej suroviny (oleja rastlinného pôvodu), prípadne koncového produktu (FAME) a cielené odstránenie SG, ASG a iných minoritných kontaminantov tak, aby sa dosiahli zlepšené kvalitatívne vlastnosti oleja (oxidačná stabilita a nízkoteplotné vlastnosti) sa ukazuje ako udržateľné a efektívne riešenie³⁴. Súčasne je zachovaný environmentálne šetrný prístup³⁴ s perspektívnym komerčným využitím aj v zinných mesiacoch za dodržania špecifikácií daných platnými technickými normami (STN EN 14214) a internými predpismi výroby³⁵. Potenciálom pri riešení odstránenia SG z bionafty by mohli byť enzýmy, ktoré majú špecifickú aktivitu k SG a sú označované za sterylglukozidázy (SGase). SGase hydrolyzujú SG na glukózu a sterol. Štiepne produkty hydrolyzy SG – glukóza, no predovšetkým steroly – sa dajú ľahko odstrániť na bežných zariadeniach existujúcich biorafinérií (odstránenie glukózy po transesterifikácii premývaním vodou)³⁵ a majú potenciál stať sa ďalšími vedľajšími produktami biorafinérií s vysokou pridanou hodnotou. Štúdia Eberhardtovej a spol.³⁶ sa zaoberala odstraňovaním SG zo sójového FAME pomocou SGase. Enzým bol produkovaný *E. coli*, ktorá bola fermentovaná po dobu

25 h (1300 l, 37 °C, pH = 6,9, 30 % sat. kyslíka), pričom zdrojom uhlíka bol glycerol v koncentrácii 20 g l⁻¹. Experiment ukázal, že 7 g SGase dokáže priemerne odstrániť 100 mg kg⁻¹ SG. Teda z 1 litra kultúry je možné získať SGase využiteľnú na odstránenie SG z 1 t bionafty.

4. Záver

Kukuričný olej je vedľajší produkt technológie výroby bioetanolu momentálne spracovávaný v zmesi olejov ako vstupnej suroviny pri výrobe biopaliva FAME. Jedným z problémov aplikácie takéhoto FAME v doprave je potenciálna tvorba precipitátov, ktoré je potrebné odstrániť, aby sa zabezpečila oxidačná stabilita a optimálne nízkoteplotné vlastnosti bionafty. Zrazeniny, ktoré sú prítomné v bionafte, sú väčšinou zložené z monoglyceridov nasýtených mastných kyselín (SMG) a z SG, ktoré sa nachádzajú v bionafte v rozmedzí koncentrácií do 1500 mg kg⁻¹ pre SMG a 10 až 480 mg kg⁻¹ pre SG. Na dosiahnutie lepšej kvality bionafty je nevyhnutné odstrániť sterylglukozidové precipitáty, zatiaľ však nie sú k dispozícii žiadne efektívne nízko-nákladové metódy na odstránenie týchto zlúčenín v priemyselnom meradle³⁵. Environmentálne šetrný potenciál predstavujú rekombinantné enzýmy SGase, ktorých aplikáciou dochádza k hydrolyze SG na glukózu a sterol a tým aj vzniku a separácii štiepných produktov – látok s vysokou pridanou hodnotou. Produkcia enzýmov priamo vo výrobnjej prevádzke pozitívne ovplyvní uhlíkovú stopu biotechnologickej výroby a zvýši efektívnosť výroby biopalív, čím sa významne zvýši pozitívny účinok na globálnu klímu. Možnosť enzymatického optimalizovania zloženia a vlastností rastlinných olejov prispieje vo výraznej miere k zvýšenej efektívnosti a zníženiu nákladov výrobných postupov produkcie biopalív bez potrebných vysokých investičných nákladov na prestavbu alebo výmenu technológie, keďže aplikácia je možná v ktoromkoľvek kroku podľa podmienok konkrétneho enzýmu.

Vypracované s finančnou podporou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky, Agentúrou na podporu výskumu a vývoja (APVV-18-0254).

Zoznam použitých skratiek

ASG	acylované sterylglukozidy
CFPP	medzná teplota filtrovateľnosti (°C, Cold Filter Plugging Point)
FAME	metylestery mastných kyselín (Fatty Acid Methyl Esters)
FFA	voľné mastné kyseliny (Free Fatty Acids)
FS	fytosteroly
KO	kukuričný olej
KO(MEFA)	metylestery z kyslej esterifikácie FFA fázy kukuričného oleja
PP	bod tuhnutia (°C, Pour Point)
SG	sterylglukozidy

TAG triacylglyceridy
SGase sterylglukozidáza

LITERATÚRA

- Hunicz J., Krzaczek P., Geca M., Rybak A., Mikulski M.: *Combust. Engines* 184, 72 (2021).
- Knothe G., v knihe: *Industrial Oil Crops* (McKeon T. A., Hayes D. G., Hildebrand D. F., Weselake R. J., ed.), kap. 2, str. 15. AOCS Press, Urbana, Illinois 2016.
- <https://www.meroco.sk/en/products/biodiesel-en>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Khethiwe E., Clever K., Jerekias G.: *Smart Grid Renewable Energy* 11, 165 (2020).
- Ferrer A., Altabella T., Arró M., Boronat A.: *Prog. Lipid Res.* 67, 27 (2017).
- Tang H., Salley S. O., Simon Ng K. Y.: *Fuel* 87, 3006 (2008).
- Ondrejčková P., Kafková V., Holíčková M., Cypričová V., Gyuranová D., Krasňan V., Rebroš M.: *Proceedings of 8th International Conference on Chemical Technology, 3-5 May 2021, online konferencia* (Veselý M., Hrdlička Z., Hanika J., Lubojacký J., ed.), str. 309, Praha 2021.
- Tang H., De Guzman R., Salley S., Simon Ng K. Y.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 87, 337 (2010).
- Dunn R. O.: *Prog. Energy Combust. Sci.* 35, 481 (2009).
- Johansson A.: *Lipids* 14, 285 (2006).
- Corn Refiners Association: <https://corn.org/wp-content/uploads/2009/12/CornOil.pdf>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Yang J., Astatkie T., He Q. S.: *Energy Rep.* 2, 211 (2016).
- Morales G., Bautista L. F., Melero J. A., Iglesias J., Sánchez-Vázquez R.: *Bioresour. Technol.* 102, 9571 (2011).
- Cantrill R., Kawamura Y.: <https://www.fao.org/home/en>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Fernandes P., Cabral J. M. S.: *Bioresour. Technol.* 98, 2335 (2007).
- Barrera-Arellano D., Badan-Ribeiro A. P., Serna-Saldivar S. O., v knihe: *Corn* (Serna-Saldivar S. O., ed.), kap. 21, str. 593. Woodhead Publishing, Duxford 2019.
- Pokorný J.: *Technologie tuků*. SNTL Praha, Praha 1986.
- Gerpen J. V., Brian He B., Duff K.: *Measurement and Control Strategies for Sterol Glucosides to Improve Biodiesel Quality: Isolation and Characterization of Acylated Steryl Glucosides in Oilseed Crops of the Pacific Northwest*. University of Idaho, Moscow 2010.
- Wilhelm T. M.: *Rev. Palm.* 31, 136 (2010).
- Bondioli P., Cortesi N., Mariani C.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 120 (2008).
- Haupt J., Brankatsch G., Wilhelm T.: *Proceedings of 13th International Rapeseed Congress, 5-9 June 2011, Prague, Czech Republic* (bez editora), str. 1105, Praha 2011.
- Riazi M. R., Chiaramonti D.: *Biofuels Production and Processing Technology*. CRC Press, Boca Raton 2018.
- <http://www.biodieselmagazine.com/articles/1566/the-role-of-sterol-glucosides-on-filter-plugging>, stiahnuté 1. 4. 2021.
- Schober S., Wolf M., Mittelbach M.: *Energy Fuels* 24, 6693 (2010).
- Harrington K. J.: *Biomass* 9, 1 (1986).
- Wang T., v knihe: *Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses* (Gunstone F. D., ed.), kap. 3, str. 59. Blackwell Publishing Ltd., Chichester 2011.
- Di Lena, G., Sanchez del Pulgar J., Lombardi Boccia G., Casini, I., Ferrari N. S.: *Foods* 9, 1788 (2020).
- Enviral, a.s.: *Raфинácia kukuričného oleja a výroba bionafty KOME*, Leopoldov 2020.
- Camerlynck S., Chandler J., Hornby B., van Zuylen I.: *SAE Int. J. Fuels Lubr.* 5, 968 (2012).
- Thanh T. T., Vergnes M.-F., Kaloustian J., El-Moselhy T. F., Amiot-Carlin M.-J., Portugal H.: *J. Sci. Food Agric.* 86, 220 (2005).
- Na-Ranong D., Laungthaleongpong P., Khambung S.: *Fuel* 143, 229 (2015).
- Tremblay A. Y., Montpetit A.: *Biofuel Res. J.* 13, 559 (2017).
- Bönsch R., Eckhard S., Saft H., Ute R., Palauschek N., Hoffmann M.: DE102009006920 (C07J17/00).
- Aguirre A., Peiru S., Eberhardt F., Vetcher L., Cabrera R., Menzella H. G.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 4033 (2014).
- Peiru S., Aguirre A., Eberhardt F., Braia M., Cabrera R., Menzella H. G.: *Biofuels* 8, 223 (2015).
- Eberhardt F., Aguirre A., Paoletti L., Hails G., Braia M., Ravasi P., Peiru S., Menzella H.G.: *Bioprocess Biosyst Eng.* 41, 555 (2018).

M. Holíčková^a, P. Ondrejčková^b, V. Kafková^a, and V. Cypričová^b (^a Association „Energy 21“, Leopoldov, Slovakia, ^b Centrum výskumu a vývoja, s.r.o., Leopoldov, Slovakia): **Steryl Glycosides in Postfermentation Corn Oil and Its Effect on the Biofuel Production**

Post-fermentation corn oil in transesterification process of biodiesel production is considered as feedstock causing major quality problems influencing both filterability and cold flow properties of crude biodiesel. Phytosterols and sterol glycosides (SG) occurring naturally in crude oil in acylated oil-soluble form are transformed during transesterification into unwanted non-acylated SG particles promoting sediments in final FAME (fatty acid methyl ester) product. Elimination and SG precipitates removal is necessary at industrial scale to achieve better biodiesel quality but preferably without significantly increasing costs of biodiesel production. Recombinant sterol glycosidase enzymes represent an environmentally friendly way

to reduce SG by its hydrolysis to glucose and sterols – substances with high added value. The production of enzymes directly in the production plant can positively affect the carbon footprint of biotechnological production and increase the efficiency, without high investment costs for conversion or technology change, since the application is possible at any production step with respect to specific enzyme conditions.

Keywords: biofuels, steryl glycosides, cold flow properties, precipitates, removal, corn oil, phytosterols

● Holíčková M., Ondrejčíková P., Kafková V., Cyprichová V.: Chem. Listy 116, 365–371 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220365>

Acknowledgement

This work was supported by grant from the Slovak Research and Development Agency (Grant number: APVV-18-0254).

ZÁZVOR, Z JÍDELNÍHO STOLU ROVNOU DO LÉKÁRNY

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
drasarp@vscht.cz

Klíčová slova: zázvor, gingeroly, shogaloly, biologická účinnost

• <https://doi.org/10.54779/chl20220519>



Obr. 1. Zázvor lékařský

Zázvor lékařský (*Zingiber officinale* Roscoe) je vytrvalá tropická rostlina (obr. 1, cit.¹), pěstovaná v Orientu pod různými jmény, jmenovitě ada, adrak, aradraka, adu, ale, allamu, gyin, halia bara, ingiver, inchi, inji, sonthi. V angličtině známá jako ginger, německy Ingwer. Je z čeledi zázvorníkovitých spolu s kurkumou, kardamomem či galangalem. Používá se její oddenek, jako potravinu i léčivá droga, ať již čerstvý, nakládaný, kandovaný, anebo mletý sušený, či z něho získaný olej a pryskyřice (oleoresin), oba poslední s přívlastkem GRAS (Generally Recognized As Safe)². V angličtině je třeba odlišit ginger-grass (*Cymbopogon martinii*) a black ginger (*Kaempferia parviflora*).

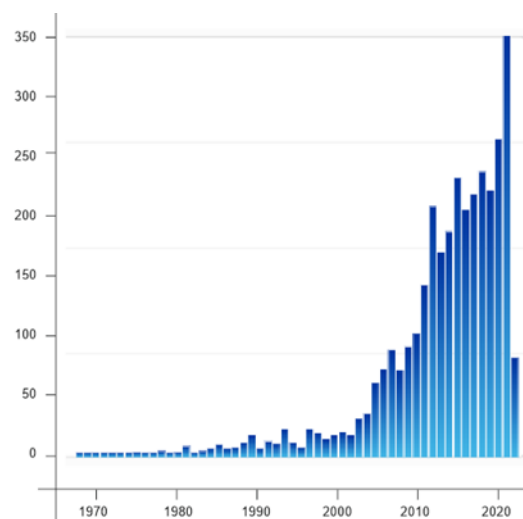
Ve světě je pěstován od nepaměti, s produkcí více než 4 miliony tun ročně, poněkud více v Indii. Produktivita se pohybuje kolem 3,5 t/ha (cit.³), přičemž je známo, že jeho produkce je stále více ohrožována napadením houbami⁴. Zmiňují se o něm, jako o užitečné léčivé rostlině, již před 4000 lety i věda⁵, dále pak TCM⁶, Dioscorides⁷ a Matthioli⁸. O tuto drogu jeví chemická literatura vzrůstající zájem, kdy v roce 2021 Chemical Abstracts Service evidoval již 351 článků, jak ukazuje graf na obr. 2.

Zázvor je jednou z nejčastěji konzumovaných rostlinných drog s významnými farmakologickými a fyziologickými aktivitami. Je široce používán v lidovém léčitelství, a to u různých onemocnění, včetně chronických, jako je obecně cukrovka^{10,11}, diabetická nefropatie¹², diabetická retinopatie¹³, diabetes 2 typu¹⁴, řady druhů nádorů^{15–19}, vředy^{20,21}, Alzheimerova choroba^{22,23}, kardiovaskulární onemocnění^{24,25}, plicní fibrózy²⁶, artritické bolesti, otravy⁵, virózy²⁷, a deprese²⁸. Příznivý účinek zázvoru u těchto onemocnění spočívá především v jeho antioxidačních^{29,30}, antimikrobiálních³¹, fungicidních³² a protizánětlivých vlastnostech³³ a kromě jiného zmenšuje obtíže při kinetóze³⁴, migréně³⁵, snižuje hladinu lipidů³⁶, mírní nevolnost

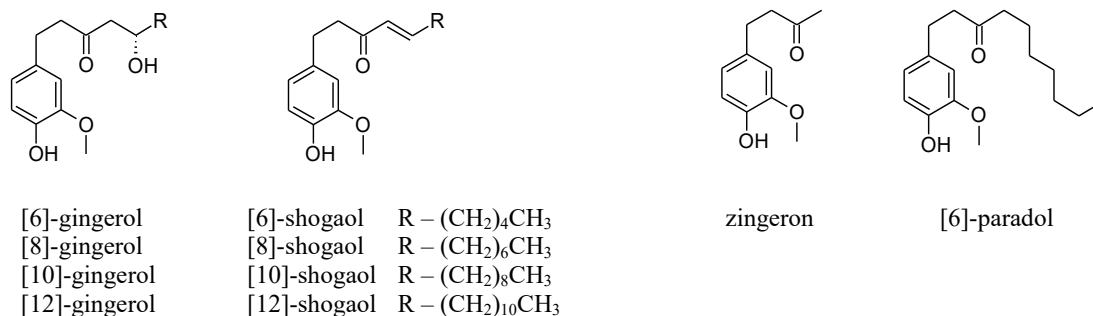
a zvracení, kterážto vlastnost je využívána mj. i při podávání chemoterapeutik³⁷, mírní křeče a bolesti v krku³⁸ a podporuje trávení³⁹. Je známo jeho použití jako afrodiziaka⁴⁰, podle Koránu jej budou užívat pravověrní v ráji⁴¹. Jde o přírodnímu stejně mocných biologických vlastností jako ty, které se snažíme popisovat v tomto časopise, např.^{42–44}, v sérii článků, kterou jsme zahájili před 15 lety⁴⁵.

Ostrá vůně a chuť čerstvého zázvorového oddenku je dána směsí bioaktivních těkavých olejů⁴⁶ či lipofilního extraktu⁴⁷ (např. gingerolů, shogaolů, paradolu a zingeronu), které tvoří přibližně 1–3 % jeho hmotnosti. [6]-Gingerol ((5S)-5-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-dekan-3-on) je považován za hlavní štiplavou a hlavní bioaktivní sloučeninu v čerstvém zázvoru⁴⁸. [4]-, [8]-, [10]-, a [12]-gingeroly jsou přítomny v menším množství⁴⁹. Kromě toho zázvor obsahuje i mono- a seskviterpeny⁵⁰, několik významných a antioxidačních sloučenin, jako je vitamin C, vitamin E, niacin, β-karoten, kyselina pantothenová, lutein, lykopen, kvercetin, genistein a tanin^{11,51}. V zázvoru byly nalezeny nejen základní prvky, jako je draslík, hořčík, fosfor, vápník, ale i mangan, měď, selen a zinek^{11,32}. Kromě toho bylo zjištěno, že zázvor obsahuje malé množství toxických prvků, jako je kadmium, olovo a nikl⁵².

Databáze PubChem uvádí, že [6]-gingerol je v literatuře asociován s působením při řadě onemocnění jako neoplazma, rakoviny, metastázy, hyperplazie, komplikace spojené s diabetem, intolerance glukosy, keratóza, průjem, krvácení, nemoci prostaty, teratozoospermia, testikulární onemocnění, patologické změny váhy⁵³. V téže databázi se uvádí, že je dráždivý a toxický (LD₅₀/myš/p.o. 250 mg kg⁻¹)



Obr. 2. Rostoucí trend počtu publikací o zázvoru (1969–2022)⁹



Číslo v hranaté závorce značí počet uhlíků v postranním řetězci za α -uhlíkem vedle uhlíku karbonylu.

(cit.⁵⁴). Na rozdíl od předchozího je statut GRAS pro produkty, které obsahuje, a mj. též studie, která uvádí, že byl studován metabolismus gingerolů a shogolů na zdravých dobrovolnících¹⁵ s dávkami *p.o.* až 2 g. Rozpustí se jej 80 mg v litru vody⁵⁵, ale jeho rozpustnost lze zvýšit komplexací s β -cyklodextrinem⁵⁶ minimálně 4 $\times$.

Gingeroly a shogaoly jsou po požití metabolizovány na glukuronidy a sulfáty, a tak snadno vylučovány¹¹.

Při zkoumání biologických vlastností zázvoru a jeho komponent narážíme na obtíž. Gingeroly, hlavní sloučeniny v čerstvém zázvoru, jsou náchylné k dehydrataci a přeměně na shogaoly, hlavní sloučeniny v sušeném zázvoru, v důsledku nestability β -hydroxyketonu při vystavení mírnému teplu a/nebo kyselým podmínkám⁵⁷. Tepelná úprava zázvoru transformuje reverzní aldolovou reakcí gingerol na zingeron, který je méně štiplavý a má kořeněně sladkou vůni.

Department of Complementary and Alternative Medicine, John A. Burns School of Medicine, University of Hawai'i, USA, po vyhodnocení dostupných studií rozdělují výsledky na „sugestivní“ (např. krátkodobé užívání zázvoru pro bezpečnou úlevu od nevolnosti a zvracení souvisejících s těhotenstvím), „smíšené“ (např. použití pro cestovní nevolnost, nevolnost po chemoterapii nebo operaci) a „nejasně“ (např. léčbu revmatoidní artritidy, osteoartritidy nebo bolesti kloubů a svalů)⁵⁸.

Prinášíme tento příspěvek opět jako učební text popisující různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek (srovnej^{59,60}), i proto, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, polopравd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Máme totiž radost, když najdeme přírodní látku, která má navíc zanedbatelnou toxicitu, téměř nulové kontraindikace a která je lidstvem používána po tisíce let.

LITERATURA

- Köhler F. E.: *Köhler's Medizinal-Pflanzen - The Internet Archive List of Koehler Images*, Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=5111564>, staženo 5. 4. 2022.
- FDA: CFR – Code of Federal Regulations Title 21, díl 3, kap. I/B, část 182/A; <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.20>, staženo 5. 4. 2022.
- Gupta R. K.: *Vegetos* 21, 1 (2008).
- Ravindran P., Kozhamburath A., Jeevalatha A., Bhat A. I., Krishnamurthy K. S.: *Australas. Plant Pathol.* v tisku (2022); DOI10.1007/s13313-022-00862-z.
- Afzal M., Al-Hadidi D., Menon M., Pesek J., Dharmi M. S.: *Drug Metab. Drug Interact.* 18, 159 (2001).
- Menon V., Elgharib M., El-awady R., Saleh E.: *Food Biosci.* 41, 100934 (2021).
- Dioscorides P.: *De materia medica* (Διοσκοριδης Π.: *Περὶ ὕλης ἱατρικῆς*), Kilikie mezi roky 50 až 75 n.l.; anglický komentovaný překlad Osbaldeston T. A., Ibis Press, Johannesburg South Africa 2000; https://ia802907.us.archive.org/16/items/de-materia-medica/scribd-download.com_dioscorides-de-materia-medica.pdf, staženo 5. 4. 2022.
- Mathioli P. O., v knize: *Commentarii in sex libros Pedacii Dioscoridis*, Praha 1562; český překlad *Herbář neboli Bylinář* str. 411. Levné knihy, Praha 2003.
- CAS: <https://scifinder-n.cas.org/>, staženo 10. 4. 2022.
- Al Hroob A. M., Abukhalil M. H., Alghonmeen R. D., Mahmoud A. M.: *Biomed. Pharmacother.* 106, 381 (2018).
- Zhu J., Chen H., Song Z., Wang X., Sun Z.: *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2018, 5692962.
- Rafieian-Kopaei M., Nasri H.: *J. Renal Inj. Prev.* 2, 9 (2013).
- Ma H., Li J.: *J. Food Biochem.* 2022, e14084.
- Ebrahimzadeh A., Ebrahimzadeh A., Mirghazanfari S. M., Hazrati E., Hadi S., Milajerdi A.: *Complement. Ther. Med.* 65, 102802 (2022).
- Zick S. M., Djuric Z., Ruffin M. T., Litzinger A. J., Normolle D. P., Feng M. R., Brenne D. E.: *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 17, 1930 (2008).
- De Lima R. M. T. a 16 spoluautorů: *Phytother. Res.* 32, 1885 (2018).
- Saha A., Blando J., Silver E., Beltran L., Sessler J., DiGiovanni J.: *Cancer Prev. Res. (Phila)* 7, 627 (2014).
- Salafzoon S., Mahmoodzadeh Hosseini H., Halabian R.:

- J. Complement. Integr. Med. 15, 20170071 (2018).
19. Chen S. Y., Lee Y. R., Hsieh M. C., Omar H. A., Teng Y. N., Lin C. Y., Hung J. H.: Front. Pharmacol. 9, 2018.00780 (2018).
 20. Wang Z., Hasegawa J., Wang X., Matsuda A., Tokuda T., Miura N., Watanabe T.: Yonago Acta Med. 54, 11 (2011).
 21. Liu D., Guo M., Hu Y., Liu T., Yan J., Luo Y., Yun M., Yang M., Zhang J., Guo L.: J. Tradit. Chin. Med. 35, 273 (2015).
 22. Noori T., Dehpour A. R., Sureda A., Sobarzo-Sanchez E., Shirooie S.: Eur. J. Pharmacol. 898, 173974 (2021).
 23. Cuya T., Baptista L., Celmar Costa Franca T.: J. Biomol. Struct. Dyn. 36, 3843 (2018).
 24. Liu Q., Liu J., Guo H., Sun S., Wang S., Zhang Y., Li S., Qiao Y.: Planta Med. 79, 322 (2013).
 25. Nicoll R., Henein M. Y.: Int. J. Cardiol. 131, 408 (2009).
 26. Liu L., Yu N., Leng W., Lu Y., Xia X., Yuan H.: Allergol. Immunopathol. 50, 104 (2022).
 27. Hayati R. F., Better C. D., Denis D., Komarudin A. G., Bowolaksono A., Yohan B., Sasmono R. T.: BioMed Res. Int. 2021, 6623400.
 28. Kukula-Koch W., Koch W., Czernicka L., Glowinski K., Asakawa Y., Umeyama A., Marzec Z., Kuzuhara T.: Molecules 23, 301 (2018).
 29. Masuda Y., Kikuzaki H., Hisamoto M., Nakatani N.: Biofactors 21, 293 (2004).
 30. Danwilai K., Konmun J., Sripanidkulchai B., Subongkot S.: Cancer Manag. Res. 9, 11 (2017).
 31. Park M., Bae J., Lee D. S.: Phytother. Res. 22, 1446 (2008).
 32. Ficker C., Smith M. L., Akpagana K., Gbeassor M., Zhang J., Durst T., Assabgui R., Arnason J. T.: Phytother. Res. 17, 897 (2003).
 33. Jeena K., Liju V. B., Kuttan R.: Indian J. Physiol. Pharmacol. 57, 51 (2013).
 34. Ernst E., Pittler M. H.: Br. J. Anaesth. 84, 367 (2000).
 35. Mustafa T., Srivastava K. C.: J. Ethnopharm. 29, 267 (1990).
 36. Kausar T., Anwar S., Hanan E., Yaseen M., Abo-elnaga S. M. H., Azad Z. R. A. A.: J. Pharm. Res. Intern. 33, JPRI.67538 (2021).
 37. Dai Y., Zhao Y., Nie K.: Evid. Based Complement. Altern. Med. 2022, 1753430.
 38. Kumari I., Madhusudan S., Walia B., Chaudhary G.: Int. J. Curr. Res. 13, 16583 (2021).
 39. Micklefield G. H., Redeker Y., Meister V., Jung O., Greving I., May B.: Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. 37, 341 (1999).
 40. Wolf A., Hrubý S., Hájek M., v knize: *Elixíry života*, str. 190. Pragma, Praha 1997.
 41. Korán, 76. súra prvního mekkánského období („Člověk“), verš 17–18, str. 173, překlad Ivan Hrbek, Odeon, Praha 1972.
 42. Kodr D., Rumlová M., Zimmermann T., Džubák P., Jurášek M.: Chem. Listy 114, 658 (2020).
 43. Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: Chem. Listy 115, 458 (2021).
 44. Jurášek M., Opletal L., Harmatha J., Sláma K., Drašar P.: Chem. Listy 115, 595 (2021).
 45. Lapčík O., Čopíková J., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 101, 44 (2007).
 46. An K., Zhao D., Wang Z., Wu J., Xu Y., Xiao G.: Food Chem. 197 Pt B, 1292 (2016).
 47. Jesudoss V. A. S., Santiago S. V. A., Venkatachalam K., Subramanian P., v knize: *Gastrointestinal Tissue, Chapter 21 - Zingerone (Ginger Extract): Antioxidant Potential for Efficacy in Gastrointestinal and Liver Disease* (Gracia-Sancho J., Salvadó J., ed.), str. 289. Academic Press, London 2017.
 48. He L., Qin Z., Li M., Chen Z., Zeng C., Yao Z., Yu Y., Dai Y., Yao X.: J. Agric. Food Chem. 66, 9010 (2018).
 49. Shah Ismail a 10 spoluautorů: *Recent Advances in Natural Products Analysis* Chapter 6 - *Analysis of other phenolics (capsaicin, gingerol, and alkylresorcinols)* (Silva A. S., Nabavi S. F., Saeedi M., Nabavi S. M., ed.), str. 255. Elsevier, Amsterdam 2020.
 50. Kiyama R.: J. Nutr. Biochem. 86, 108486 (2020).
 51. Dhanik J., Neelam A., Viveka N.: J. Pharmacogn. Phytochem. 6, 174 (2017).
 52. Koch W., Kukula-Koch W., Marzec Z., Kasperek E., Wyszogrodzka-Koma L., Szwerc W., Asakawa Y.: Int. J. Mol. Sci. 18, 452 (2017).
 53. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gingerol#section=Associated-Disorders-and-Diseases>, staženo 10. 4. 2022.
 54. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gingerol#section=Toxicity>, staženo 10. 4. 2022.
 55. <https://foodb.ca/compounds/FDB001108>, staženo 10. 4. 2022.
 56. da Silva J. A., Sampaio P. A., Dulcey L. J. L., Cominetti M. R., Rabello M. M., Rolim L. A.: J. Drug Delivery Sci. Technol. 61, 102103 (2021).
 57. Sang S. M., Snook H. D., Tareq F. S., Fasina Y.: J. Agric. Food Chem. 68, 8517 (2020).
 58. Hoffman T.: Hawaii Med. J. 66, 326 (2007).
 59. Čopíková J., Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 100, 778 (2006).
 60. Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: Chem. Listy 115, 363 (2021).
- M. Jurášek and P. Drašar** (*Department of Chemistry of Natural Compounds, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Ginger, from the Dining Table Straight to the Pharmacy**
- Common food and spice, ginger contains a plethora of biologically active compounds that may serve as a basis for pharmaceutical exploitation.
- Keywords: ginger, gingerols, shogalols, biological activity
- Jurášek M., Drašar P.: Chem. Listy 116, 519–521 (2022).
 ● <https://doi.org/10.54779/chl20220519>

O CHMELOVÝCH HLÁVKÁCH DO ZLATAVÉHO MOKU

**MICHAL JURÁŠEK^a, ADOLF RYBKA^b,
LUBOMÍR OPLETAL^c a PAVEL DRAŠAR^a**^a Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6-Dejvice,^b Katedra zemědělských strojů, Technická fakulta, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6-Suchbát, ^c Katedra farmakognozie a farmaceutické botaniky, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Královémichal.jurasek@gmail.com, rybka@tf.czu.cz,
opletal@faf.cuni.cz, drasarp@vscht.cz

Došlo 18.7.22, přijato 25.8.22.

Klíčová slova: chmel, pivo, biologická aktivita, lidové léčitelství

● <https://doi.org/10.54779/chl20220668>

Chmel otáčivý¹ (*Humulus lupulus* L., obr. 1) je vytrvalá dvoudomá pravotočivá popínavá liána z čeledi konopitých (Cannabaceae). Je pěstován od nepaměti a lze najít, že za starých časů byl používán jako bylina mnohého užití, jako např. k barvení vlasů (česáči chmele potvrdí pohledem na své ruce), k „čištění krve“, jako krmivo pro dobytek, k výrobě lan, látek a papíru, pro balení křehkých předmětů a i k „odpuštění démonů“ v noci³.

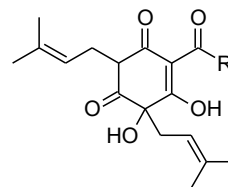
Pokud se týče použití chmele v humánní medicíně, již Dioscorides⁴ radí přimíchávání do hmoty na přípravu čípků, do mastí s adstringentními účinky, do parfémů, do léčivých přípravků k odstranění únavy, dále pak použití chmele v odvarech na koupele za tepla nebo za studena v okolí ženského přirození; poslední doporučuje i Matthioli⁵, např. proti „otoku a tvrdosti lůna“. Jarní salát z výhonků považuje za dobrý prostředek k „otevření zacpaných jater“ (zřejmě prostředek pro uvolnění žluči); jinak chmelem léčí mj. žloutenku, malomocenství, francouzskou nemoc. Pak tvrdí: „pítí odvaru vršků chmelových činí tělo pěkným“, což i dnes lze vidět na pivařích. Též vnitřně pomáhá ke

Obr. 1. Chmel otáčivý (*Humulus lupulus* L., cit.²)

zmírnění pohlavního pudu (anafrodiziakum)⁶, kupodivu i v homeopatických přípravcích (dokonce i proti „bolestivým erekcím“⁷). V lidovém léčitelství se také využívá jako sedativum a prostředek povzbuzující chuť k jídlu. Pomáhá proti nespavosti, působí močopudně a užívá se při křečích svalů⁸. Používá se při potížích v menopauze ke zlepšení psychického stavu. Příznivě působí na hladinu cholesterolu v krvi. Evropská encyklopedie léčivých bylin uvádí⁹ mnohé použití a účinky, mj. i jako léčivou drogu s estrogenní aktivitou. Droga je používána pro zmírnění slabších příznaků psychického stresu a k navození spánku.

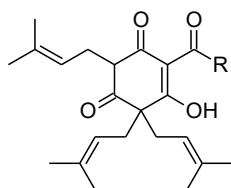
Chmel není u nás příliš znám jako potravinu, nicméně je to jedno z nejstarších a tradičních využití rostliny¹⁰, je konzumován na jaře, podobně jako chřest, kdy se sbírají mladé chmelové výhonky (pazoušky). Ty pak jsou křehkou zeleninou a jsou užívány, divoké i pěstované, buď jako salát nebo jako vařené (podobně chřestu) nebo jako nakládání. Po uvaření mají mladé výhonky nízký obsah tuku, energetickou hodnotu (104 kJ/100 g) a jsou dobrým zdrojem vlákniny. Obsahují vitamin C a kyselinu listovou, ale i kyselinu šťavelovou. Výhonky mají krátkou trvanlivost, proto by měly být spotřebovány krátce po sklizni¹¹. Dnes patří k nejdražším zeleninám svého typu, protože jeden výhonek délky do 10 cm váží pouze cca 1 gram. Starší části rostliny již jedlé nejsou, ale poslouží k dekoraci svým aroma.

Nejvíce použití nalézá samotná léčivá droga: chmelové hlávky (vejčité šištice samičího květenství; světle zelená šišticeovitá plodenství), *Lupuli flos* (jsou to usušená, zpravidla celá samičí květenství druhu *Humulus lupulus* L.), *Flores lupuli* (chmelové květy), *Fructus lupuli* (chmelový plod), *Strobuli lupuli* (chmelové šištice), skládající se z až 2 cm dlouhých šupin se zlatožlutými lupulinovými žlázkami (*Glandulae lupuli* nebo *Lupulinum* (lupulin)). Chmelové hlávky slouží zejména k výrobě piva¹². Droga obsahuje floroglucinoly (do 20 %), a to humulonový typ (= α -kyseliny, do ~17 %), tj. humulon, kohumulon, prehumulon, posthumulon, adhumulon (obr. 2),



humulon	R = CH ₂ CH(CH ₃) ₂
kohumulon	R = CH(CH ₃) ₂
adhumulon	R = CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃
prehumulon	R = CH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂
posthumulon	R = C ₂ H ₅

Obr. 2. Chmelové α -hořké kyseliny



lupulon	R = CH ₂ CH(CH ₃) ₂
kolupulon	R = CH(CH ₃) ₂
adlupulon	R = CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃
prelupulon	R = CH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂

Obr. 3. Chmelové β -hořké kyseliny

a lupulonový typ (= β -kyseliny, do ~10 %), tj. lupulon, kolupulon, prelupulon, postlupulon a adlupulon (obr. 3). Dále pak silici (0,5–3 %), obsahující β -myrcen (monoterpen), β -karyofylen, humulen (seskviterpeny) tvoří 57–82% podíl v silici, dále flavonoidy (0,5–1,5 %) – prenylované flavanony: 6-prenylnaringenin, 8-prenylnaringenin, isoxanthohumol) a chalkony: xanthohumol, desmethylxanthohumol. Droga obsahuje polysacharidy (50–60 %), nalézá se zde i 2–6 % tříslovin a dusíkaté látky⁶, cholin či adenin. Z chmele bylo dosud izolováno a charakterizováno více než 1000 sloučenin⁹. Pokud se týče aromatických látek, lze z hlávek získat extrakci či destilaci s vodní parou velmi aromatický produkt, který je již vyráběn od časného 19. století.

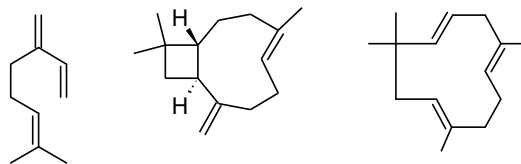
Směs těkavých složek (silice) a pryskyřic chmele (oleopryskyřice 3–20 %) sestává⁹ z různých prenylovaných derivátů floroglucinu zvaných „hořké kyseliny“. Jsou klasifikovány buď jako „ α -kyseliny“ nebo „ β -kyseliny“, které se rozlišují skutečností, že ty první jsou vysráženy z hrubého extraktu chmele přidáním octanu olovnatého. β -Kyseliny by podle definice měly zůstat v roztoku. α -Kyseliny jsou humulony (2–12 % sušených šištic), zatímco β -kyseliny se nazývají lupulony (1–10 % sušených šištic). α -Kyseliny jsou považovány za nejdůležitější složky při určování kvality chmele. Přispívají ke stabilitě pěny a také k antibakteriálním vlastnostem. I když jsou považovány za hlavní „hořké kyseliny“ z chmele, paradoxně nemají hořkou chuť, a to ani při koncentracích 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Chmelové α -kyseliny (humulony) isomerizují na odpovídající „iso- α -kyseliny“ za různých reakčních podmínek, např. při vyšších hodnotách pH. Tyto hořké iso- α -kyseliny jsou artefakty a tvoří více než 80 % látek z chmele, obsažených v typických pivech. Mohou být i oxidovány na humulinony a 4'-hydroxyallohumulinony. Za stejných okolností jsou β -kyseliny (lupulony) transformovány na tzv. hulupony.

Z uvedených důvodů je droga relativně nestabilní a po určité době (podle způsobu skladování) ztrácí kvalitu. Čerstvá droga má ostrou aromatickou chmelovou vůni, droga, u níž došlo ke tvorbě oxidačních produktů pak výrazný sýrovitý zápach; tyto rozkladné produkty snižují

biologickou aktivitu. Podle dřívějších lékopisů mohla být droga používána maximálně 1 rok po její adjustaci, v současné době však Český lékopis tento požadavek neobsahuje.

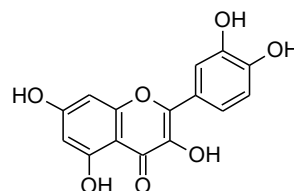
Silice (0,5–1,5 %) sestává hlavně z jednoduchých oxidovaných alkanů, monoterpenů a seskviterpenů. Primárními těkavými složkami ve všech kultivarech chmele jsou monoterpen myrcen a seskviterpeny β -karyofylen a humulen (57–82 % silice), obr. 4. Pokud jde o tradiční ekonomickou hodnotu, silice a hořké kyseliny představují nejvýznamnější součásti chmele.

Obr. 4. Struktury složek silice: (zleva) myrcen, β -karyofylen a humulen

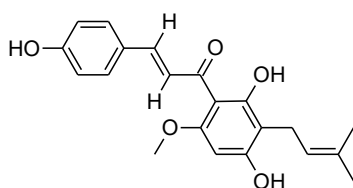
Jako složky se sedativní aktivitou jsou uváděny humulon a lupulon z hořkých kyselin, jejich degradační produkt 2-methyl-3-buten-2-ol a myrcen (7-methyl-3-methylen-1,6-oktadien). Oba poslední jsou známé hmyzí feromony¹³. Zmíněný alkohol je však přítomen pouze ve stopových množstvích v čerstvě sklizených chmelech, ale zvyšuje se po dvou letech až na 20 % z obsahu těkavých látek v důsledku degradace hořkých kyselin.

Třetí skupina sloučenin sestává z flavonoidů (0,5–1,5 %) včetně kvercetinu (obr. 5) a glykosidů kempferolu (kaempferol) a z asi 30 prenylovaných, oxidovaných a/nebo cyklizovaných chalkonů. Nejhojnějšími chalkony jsou xanthohumol (až 1 % ze suchých šištic a 80–90 % celkových flavonoidů, obr. 6) a desmethylxanthohumol. Tyto chalkony jsou snadno isomerizovány na odpovídající flavanony, resp. na isoxanthohumol a směs (cca 3:2) 6-prenylnaringeninu a 8-prenylnaringeninu (25–60 mg/kg), obr. 7.

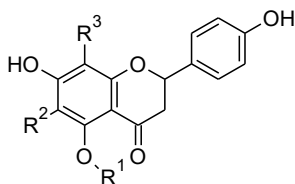
Látkou z chmelových šištic s estrogení aktivitou je racemický 8-prenylnaringenin, vytvořený spolu s méně aktivním 6-prenylnaringeninem. Isoxanthohumol je hlavní prenylovaný flavonoid v pivu, protože xanthohumol je v průběhu vaření při zvýšených teplotách do značné míry isomerizován. Těchto pět prenylovaných flavonoidů, tj. xanthohumol, desmethylxanthohumol, isoxanthohumol,



Obr. 5. Kvercetin



Obr. 6. Xanthohumol



isoxanthohumol $R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{prenyl-}$
 6-prenylnaringenin $R^1 = R^3 = \text{H}$, $R^2 = \text{prenyl-}$
 8-prenylnaringenin $R^1 = R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{prenyl-}$

Obr. 7. Flavonoidy

6-prenylnaringenin a 8-prenylnaringenin (obr. 6 a 7) představuje sadu zajímavých bioaktivních sloučenin, protože prokázaly schopnost inhibovat proliferaci několika nádorových buněčných linií *in vitro*. Mezi další složky chmele patří aminokyseliny a proteiny (15 %), polysacharidy (50–60 %), minerály, fenolové kyseliny, jako jsou chlorogenová a kávová, lipidy a kondenzované třísloviny (2–4 %)⁹.

Evropská encyklopedie léčivých drog uvádí⁹ u látek z chmele velmi mnoho různých aktivit, jako sedativní, estrogenní, antimikrobiální, antidiabetickou (a s tím spojenými pozitivními účinky na hypertriacylglycerolemii včetně sníženého rizika souvisejících onemocnění, jako je ateroskleróza), antiosteoporotickou, protizánětlivou, antiproliferační, antiangiogenní, protinádorovou.

Je záslužné, že přípravu, jak bychom řekli dnes „cereálně-chmelového smoothie“, které již samotný Ódin vařil ve Walhalle, upravuje i první zákoník našeho světa, který vydal král Chammurapi. Jeho přípravu chápali vladaři jako mimořádně důležitou a mnohý zákoník a soupis práv ji reguluje. V českém prostředí se dokonce vždy tradovalo, že která vláda dovolí zdražení piva, do roka padne (to ale mohlo souviset s dobovými sny za časů budování lepšího příštího). Ovšem, pokud by to platilo, museli bychom asi mít v současnosti novou vládu několikrát za rok. Než vzdejme hold léčivé bylině, která dala vzniknout našemu „tekutému chlebu vezdejšímu“.

Přinášíme tento příspěvek jako učební text popisující různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek^{14–16} i pro-

to, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, polopravd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Je nábíledni, že zkoumání přírodních látek, jakožto látek z obnovitelných zdrojů, je jednou z cest, jak laciným a efektivním způsobem přispět ku všeobecnému prospěchu^{17,18}. Pokud se tak činí s přírodninou, která byla oblíbena bohy i králi a která je lidstvem používána po tisíce let, je jen dobře.

LITERATURA

1. Neve R. A.: *Hops*. Springer Dordrecht 1991.
2. Thomé O. W.: *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz*. Gera 1885.
3. Korpeläinen H., Pietiläinen M.: *Econ. Bot.* 75, 302 (2021).
4. Dioscorides P.: *De materia medica* (Διοσκουρίδης Π.: Περὶ ὕλης ἱατρικῆς), Kilikie mezi roky 50 až 75 n.l.; anglický komentovaný překlad Osbaldeston T. A., Ibis Press, Johannesburg South Africa 2000; https://ia802907.us.archive.org/16/items/de-materia-medica/scribd-download.com_dioscorides-de-materia-medica.pdf, staženo 5. 4. 2022.
5. Mathioli P. O. v knize: *Commentarii in sex libros Pedacii Dioscoridis*. Praha 1562; český překlad Herbář neboli Bylinář, str. 411. Levné knihy, Praha 2003.
6. Vydržel A., *Codex Agrol*, Codex Agrol-Vydržel, Olomouc 1935.
7. https://www.webhomeopath.com/homeopathy/homeopathic-remedies/homeopathy-remedy-Lupulus_humulus.html, staženo 11. 7. 2022.
8. Krejča J., Kresánek J.: *Atlas léčivých rostlin a lesních plodov*. Osveta, n.p., Martin 1982.
9. EMEA: *Humulus (Lupuli flos) - Herbal medicines for human use - European Drugs Reference Encyclopedia Community Herbal Monograph on Humulus lupulus L., flos*, 2008; <https://theodora.com/drugs/eu/index.html>, staženo 29. 5. 2022.
10. Ruggeri R., Loreti P., Rossini F.: *Eur. J. Agron.* 93, 11 (2018).
11. Rossini F., Virga G., Loreti P., Provenzano M. E., Danieli P. P., Ruggeri R.: *Agronomy* 10, 1547 (2020).
12. Rybáček V.: *Chmelářství*. Agroscience, Chrástany 1980.
13. <https://www.pherobase.com/>, staženo 1. 6. 2022.
14. Bejček J., Spiwok W., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
15. Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 363 (2021).
16. Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 458 (2021).
17. Kaczorova D., Beres T., Zeljkovic S. C., Bjelkova M., Kuchar M., Tarkowski A. P.: *Chem. Listy* 114, 277 (2020).
18. Rádl S.: *Chem. Listy* 115, 246 (2021).

M. Jurášek^a, A. Rybka^b, L. Opletal^c, and P. Drašar^a (^a *Department of Chemistry of Natural Compounds, University of Chemistry and Technology, Prague,* ^b *Department of Agricultural Machines, Faculty of Engineering, Czech University of Life Sciences Prague,* ^c *Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University, Hradec Králové*): **About Hop Cones for a Golden Brew**

As a component of drinks, food, cosmetics, and spice, hops yields a plethora of biologically active compounds. This plant, which was valued by gods and kings through the history, may serve as a basis for pharmaceutical exploitation: not only as a healthy folk medicine but also in a search for the effective sedative, estrogenic, antimicrobial, antidiabetic, and cancerostatic compounds.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: hops, beer, biological activity, folk medicine

● Jurášek M., Rybka A., Opletal L., Drašar P.: Chem. Listy 116, 668–671 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220668>

O HALUCINOGENNÍM OŘÍŠKU V NAŠÍ KUCHYNI

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

*Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika
drasarp@vscht.cz*

Došlo 1.2.23, přijato 7.3.23.

Článek popisuje muškátový oříšek z muškátovníku (*Myristica*), který se používá jako koření a tradiční léčivo, ale je také zneužíván jako nelegální droga. Popisuje hlavní chemické složky, konkrétně myristicin.

Klíčová slova: muškátový oříšek, muškátovník, *Myristica*, koření, lék, zneužitá droga, myristicin

Muškatovník vonný, též pravý (někdy též mácis) *Myristica fragrans* Houtt. (Myristicaceae, obr. 1) je stále zelený strom endemický pro Indonéskou provincii Maluku (dříve známou jako Spice Islands), byl dlouho důležitý nejen jako koření, ale i jako komodita, která měla dříve geopolitický význam. Jeho roční produkce je 12 tisíc tun. Mezi domorodci byly shromážděny informace o léčivých aspektech od prodejců bylinných léčivých přípravků, léčitelů a porodních asistentek. Bylo zjištěno, že *M. fragrans* se stále používá, zejména jeho „oříšek“, mimo kulinářské i pro léčebné účely, najmě na zmírnění průjmu či nadýmání, vředy, nespavost, k domácí léčbě astmatu, pankreatitidy, nefritidy. Ještě koncem minulého století se udávalo, že jeho údajné halucinogenní a psychoaktivní vlastnosti, jiné než slabě sedativní, nejsou literaturou podepřeny². Nicméně je známo, že použití muškátového oříšku bylo běžné v „hippie kultuře“ šedesátých a sedmdesátých let, u drogově závislých, vězňů, adolescentů a vysokoškolských studentů, kde byl považován za dostupnou alternativu při

omezené dostupnosti alkoholu a rekreačních drog³, často v kombinaci s jinými medikamenty (konopí, syntetické kanabinoidy, amfetaminy, benzodiazepiny, difenhydramin, duloxetin, klonazepam, sirup proti kašli, acetaminofen, antihistaminka), a zvláště pak s alkoholem, či prostě jako laciný fet⁴, psychomimetikum, přírodní halucinogen, narkotikum a spirituální agens⁵. Že se jedná o fet, potvrzuje i to, že se o látku zajímal i známý drogový nestor Alexander Shulgin⁶. Prvá údajná intoxikace muškátovým oříškem (*Moscata Nux*) byla však popsána již vlámským lékařem Matthaeusem Lobeliem^{7,8} v roce 1576.

Muškatový oříšek je vysušené semeno, endosperm plodu stromu muškátovníku pravého, je využíván především jako dochucovací koření podporující chuť k jídlu a zajišťující klidné trávení. Podobně jako oříšek se používá v kuchyni i muškátový květ. Je to sušený míšek ze semene muškátovníku, hmota, která se v plodu nalézá na povrchu oříšku, pod osemení „slupkou“. V kuchyni se používá i osemení (vnější obal „oříšku“).

Muškatový oříšek je účinné spasmolytikum, tišící zejména břišní bolesti a křeče, ve středních dávkách vyvolává menstruaci, může rovněž narušit vývoj plodu. Lidových a tradičních použití muškátového oříšku je mnoho a liší se napříč různými kulturami, patří mezi ně gastrointestinální poruchy, balzamování, léčba moru, astmatu, kašle, cholery, úzkosti, hemoroidů, psychóz, melancholie a revmatologických onemocnění, použití jako afrodiziakum, látka vyvolávající potrat, narkotikum, látka proti nadýmání. Našel i svoje místo v alternativní medicíně, například v podání a praxi Andrewa T. Weila⁹.

Soudobě lze muškátovému oříšku přisoudit aktivity antimikrobiální, antioxidační, analgetické, antidepressivní, anxyolytické, protizánětlivé, antireumatické a vasodilatační až afrodiziakální. Není vyloučeno jeho použití při bolestech zubů, svalů a kloubů. Je studována anti-leukemická aktivita extraktů. Klinické testy s kontrolovanými dávkami prokázaly zlepšení stavu myšlení, spánku a snížení únavy a snížení neuropatických bolestí⁵. Merck Index uvádí, že zmírňuje plynatost, koliku trávicího traktu a žaludeční nevolnost (karminativum)¹⁰.



Obr. 1. Muškátovník vonný *Myristica fragrans* Houtt. (Myristicaceae)¹

Mezi negativní efekty lze zařadit působení na CNS, vyvolání depresí, sebevražedných myšlenek, ale i tachykardii, hypotenzi, nevolnost, zvracení, žízeň, suchost v ústech, pocení, poruchy vidění, snížení teploty a poruchy ve vnímání částí těla. Je prokázáno, že nadměrná konzumace muškátového oříšku přesahující „toxickou úroveň“ může přinést negativní účinky na zdraví, protože působí neurotoxicky¹¹.

Ve vyšších dávkách se již chová jako delirogenní narkotikum, ačkoliv je jako droga zneužíván zřídka, mnohdy z pouhé zvědavosti. V nižších dávkách se droga projevuje jako účinné narkotikum, narušující kvalitativní úroveň vědomí (tzv. delirant), neboť působí jako anticholinergikum. Intoxikace je navíc dlouhodobá a vysilující, zbytkový diskomfort a bolesti hlavy mohou přetrvávat i několik dní. Projevy intoxikace mají tři fáze: Fáze I (2–5 hodin po požití účinné dávky): možnost lehké agrese, nevolnost až zvracení, zarudnutí, zteplání pokožky, rozostřené vidění, ataxie, zastřená řeč. Fáze II (9–12 hodin): euforie či dysforie, otupělost, netečnost, narušení krátkodobé paměti, zakalené vědomí, dezorientace, iluze, snové vidiny, strnulost, celková slabost, narušené vnímání času (extrémně pomalu), deformace obrazu, času, prostoru, znovuprožívání minulosti (záblesky vzpomínek z minulosti, na které člověk málem zapomněl), při zavření očí kaleidoskopické (někdy barevné) obrazce a jiné vizuality, prodloužení reakční doby. Fáze III (12–24 hodin): vyčerpání a skleslost, částečná amnézie, dlouhý spánek, úporné bolesti hlavy i kloubů, rozlámanost, schvácenost¹². Doznívání účinku může trvat mnohem déle.

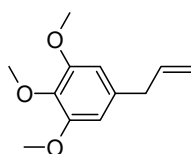
Nicméně, jak píše Andrew T. Weil⁹: „Osoby, které používají narkotika, jsou často ochotny trpět extrémním diskomfortem pro pár příjemných okamžiků, vyvolaných drogami“, neboť Aldousem Huxleym vyslovený požadavek¹³ na ideální drogu zní: „Je zapotřebí nová droga, která uvolní a utěší naše trpící druhy, aniž by v dlouhodobém horizontu způsobila větší škodu, než jaké působí dobro v horizontu krátkém. Taková droga musí být silná v malých dávkách a musí být syntetizovatelná..... Musí být

méně toxická než opium nebo kokain, méně schopná působit nežádoucí sociální důsledky než alkohol nebo barbituráty, méně škodlivá vůči srdci a plicím než dehty a nikotin cigaret. A na lepší straně by měla působit změny ve vědomí zajímavější a přirozeněji cennější než pouhé zklidnění, uvolnění, nebo sny a bludy, či pocit všemocnosti“, který zatím nikdy nebyl splněn, neboť zatímco se očekávaný raus dostaví za několik hodin po požití 5–15 g umletých oříšků (tj. 1–3 oříšky), k toxickému předávkování dochází již po požití 5 g (cit.¹⁴).

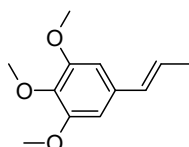
Popsáno bylo mnoho klinických případů otrav. Jedním je případ 18leté studentky, která si stěžovala na palpitaci (zvýšené uvědomování si srdečního rytmu, často spojené s pocitem neobvykle rychlého, pomalého či nepravidelného rytmu), ospalost, nevolnost, závratě, žízeň a sucha v ústech. Byla velmi úzkostná, neklidná a rozrušená a popsala, že „ve stavu transu“ se cítila „jako čertík v krabici, který se chce dostat ven“, ale neměla halucinace. Nestěžovala si na močové nebo břišní problémy ani na záchvaty nebo migrény. Popřela jakékoli sebevražedné myšlenky³. Jako druhý z mnoha popsáných případů uvedme případ 25letého bělocha, který po otravě pocítoval takovou žízeň (*polydipsia*), že pil 5 litrů vody (eventuálně i vlastní moči) za hodinu, u kterého po opakované intoxikaci lékaři diagnostikovali chronickou psychózu (chronic nutmeg psychosis) s velmi špatnou prognózou¹⁴. Účinky se liší u různých lidí. Různých případů je popsáno v seriózní i šedé literatuře mnoho.

Mezi hlavními obsahovými látkami muškátovníku a jeho plodů jsou uváděny elemicin, isoelemicin, safrol, myristicin, eugenol, 4-terpineol, sabinen, α - a β -pinen, a mnoho dalších terpenů, fenolů, lignanů a řada dalších látek^{5,15}.

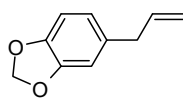
Když se však podíváme na první čtyři látky a srovnáme jejich strukturální vzorce s meskalinem MDMA (extáze, 3,4-methylenedioxyamfetamin) a MMDA (3-methoxy-4,5-methylenedioxyamfetamin), tak určitou podobnost najdeme.



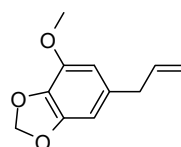
elemicin



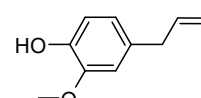
isoelemicin



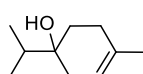
safrol



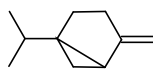
myristicin



eugenol

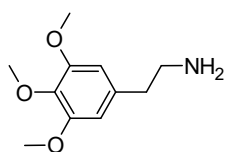


4-terpineol

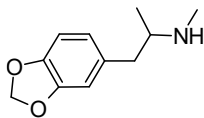


sabinen

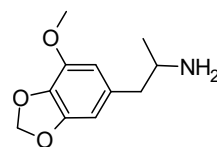
 α -pinen β -pinen



meskalin



MDMA



MMDA

Literatura považuje myristicin (4-methoxy-6-(2-propenyl)-1,3-benzodioxol), jehož je v oleji muškátového oříšku z daných látek nejvíce (až 12 %), za hlavní biologicky aktivní složku v oříšku^{11,16}. Týž zdroj má za to, že se myristicin v organismu transformuje na Shulginem¹⁷ popsáný MMDA, což ovšem pozdější zdroje nepotvrzují¹⁸. Rahman¹¹ dále píše, že myristicin je slabým inhibitorem monoaminooxidasy¹⁹, zatímco jiné složky muškátovníku (linalool, safrol, isoeugenol a eugenol) jsou (vzdáleně) strukturně podobné agonistu serotoninu, které by mohly být odpovědné za některé kardiovaskulární symptomy³. Je také možné, že myristicin pouze zdůrazňuje existující mentální poruchu¹⁴. Také působí jako anticholinergikum, protialergická, protizánětlivá, cytoprotektivní látka a ovlivňuje funkci celé řady enzymů²⁰, dále může být prospěšný při ulcerativní kolitidě²¹. Kromě muškátovníku je myristicin obsažen i v tkáních mrkve, kopru, bazalky, skořice (skořicovníku) a petržele²², citrusů²³ a dalších rostlin, je to přirozeně se vyskytující insekticid a akaricid.

Výše uvedené informace společně ukazují na v současné době stávající a závažné mezery v oblasti potravinářské chemie a mohly by pomoci ke zdůraznění potřeby dalšího výzkumu nepříznivých zdravotních účinků potenciálně spojených se spotřebou potravin obsahujících alkenylbenzeny, alkylfenoly a příbuzné látky.

Přinášíme tento článek jako další příspěvek do série učebních textů popisujících různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek^{24–26} i proto, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, poloprávd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Je nábíledni, že zkoumání přírodních látek, jakožto látek z obnovitelných zdrojů, je jednou z cest, jak laciným a efektivním způsobem přispět ku všeobecnému prospěchu^{27,28}.

LITERATURA

- Köhler F. E.: *Köhler's Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen mit kurz erläuterndem Texte*, Gera-Untermhaus, 1887.
- Gils V. L., Cox P. A.: *J. Ethnopharmacol.* 42, 117 (1994).
- Demetriades A. K., Wallman P. D., McGuinness A., Gavalas M. C.: *Emerg. Med. J.* 22, 223 (2005).
- Ehrenpreis J. E., DesLauriers C., Lank P., Armstrong P. K., Leikin J. B.: *J. Med. Toxicol.* 10, 148 (2014).
- Barman R., Bora P. K., Saikia J., Kemprai P., Saikia S. P., Haldar S., Banik D.: *Phytother. Res.* 35, 4632 (2021).
- Shulgin A. T.: *Nature* 197, 379 (1963).
- Cushny A. R.: *Proc. R. Soc. Med. 1* (Ther. Pharmacol. Sect.), 39 (1908).
- de L'Obel M., v knize: *Plantarum, seu, Stirpium historia*, str. 424. Ex officina Christophori Plantini, Antverpiae 1576.
- Weil A. T.: *Econ. Bot.* 19, 194 (1965).
- The Merck Index, Merck & Co. Whitehouse Station New Jersey 2001.
- Rahman N. A. A., Fazilah A., Effarizah M. E.: *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol.* 5, 212 (2015).
- https://fr.wikipedia.org/wiki/Noix_de_muscade?oldid=176030038, staženo 4. 1. 2023.
- Huxley A.: *The doors of perception*, Chatto & Windus, London 1954.
- Brenner N., Frank O. S., Knight E.: *J. R. Soc. Med.* 86, 179 (1993).
- Ashokkumar K., Simal-Gandara J., Murugan M., Dhanya M. K., Pandian A.: *Phytother. Res.* 36, 2839 (2022).
- Shulgin A. T.: *Nature* 210, 380 (1966).
- Shulgin A., Shulgin A.: *PiHKAL: A Chemical Love Story*, Transform Press, Berkeley 1991.
- Götz M. E., Sachse B., Schäfer B., Eisenreich A.: *Foods* 11, 1988 (2022).
- Truitt E. B., Duritz G., Ebersberger E. M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 112, 647 (1963).
- CAS Life Sciences: Structure Activity Relationships, Myristicine.
- Huda M. I. A. E., Mohamed M. F. A.: *Life Sci., Part B* 311, 121187 (2022).
- Zhao Q., Liu C., Shen X., Xiao L., Wang H., Liu P., Wang L., Xu H.: *Mol. Med. Rep.* 15, 2280 (2017).
- Duan B., Tan X., Long J., Ouyang Q., Zhang Y., Tao N.: *Pestic. Biochem. Physiol.* 189, 105312 (2023).
- Jurášek M., Stárka L., Drašar P.: *Chem. Listy* 116, 115 (2022).
- Bejček J., Spiwok W., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
- Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 363 (2021).
- Jurášek M., Opletal L., Harmatha J., Sláma K., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 595 (2021).
- Rádl S.: *Chem. Listy* 115, 246 (2021).

M. Jurášek and P. Drašar (*Department of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic*): **About Hallucinogenic Nut in our Kitchen**

The article describes the nutmeg of a nutmeg tree (*Myristica*), which is used as a spice and traditional medicine but is also abused as an illicit drug. The main chemical components, namely myristicin, are described.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: nutmeg, nutmeg tree, *Myristica*, spice, medicine, illicit drug, myristicin

IZOLÁCIA PRÍRODNÝCH ZLÚČENÍN S ORGANOLEPTICKÝMI VLASTNOSTAMI POUŽITÍM VYBRANÝCH POKROČILÝCH EXTRAČNÝCH TECHNÍK

VERONIKA VÝBOHOVÁ^{a,b} a KATARÍNA HROBOŇOVÁ^a

^a Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav analytickej chémie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^b Axxence Slovakia s.r.o., Mickiewiczova 9, 811 07 Bratislava, Slovensko
veronika.vybohova@stuba.sk, katarina.hrobonova@stuba.sk

Došlo 18.1.23, prijaté 20.3.23.

Tento článok predstavuje prehľad vybraných pokročilých techník extrakcie tuhá fáza – kvapalina používaných na extrakciu zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodných zdrojov. Tieto zlúčeniny sú dôležitými prísadami do potravín, kozmetických a farmaceutických produktov. Najčastejšie používané techniky sú extrakcia podporená ultrazvukom a extrakcia podporená mikrovlnným žiarením, aj keď ďalšie účinné techniky zahŕňajú extrakciu rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku, extrakciu tekutinou v nadkritickom stave, pulzové elektrické pole a extrakciu podporenú enzýmami. Tieto techniky znižujú alebo eliminujú množstvo toxických rozpúšťadiel potrebných na extrakciu, skracujú čas extrakcie a väčšinou sú energeticky účinnejšie. Nízkoenergetické extračné podmienky (pulzové elektrické pole a enzýmy) môžu lepšie zachovať zlúčeniny citlivé na teplo, pH a svetlo.

Kľúčové slová: organoleptické vlastnosti, prírodné materiály, extrakcia tuhá látka – kvapalina

Obsah

1. Úvod
2. Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami
3. Izolácia zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodných materiálov
 - 3.1. Extrakcia tuhá fáza – kvapalina
 - 3.1.1. Extrakcia podporená mikrovlnným žiarením
 - 3.1.2. Extrakcia podporená ultrazvukom
 - 3.1.3. Extrakcia tekutinou v nadkritickom stave
 - 3.1.4. Extrakcia rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku
 - 3.1.5. Extrakcia podporená pulzovým elektrickým poľom
 - 3.1.6. Enzýmami podporená extrakcia
4. Záver a vyhliadky do budúcnosti

1. Úvod

Prírodné materiály (rastlinného, živočíšneho alebo mikrobiologického pôvodu) boli oddávna dôležitým zdrojom látok s organoleptickými vlastnosťami. Niektoré z týchto prírodných chemikálií patrili medzi prvé organické chemikálie, ktoré boli izolované a charakterizované, počnúc mentolom v roku 1771 (cit.¹). Mnohé zlúčeniny izolované z prírodných zdrojov, zvyčajne rôzne esenciálne oleje alebo zložky rastlinných extraktov, sa dlhodobo používajú na výrobu ochucovadiel a vôní. V devätnástom

a dvadsiatom storočí sa izolované látky začali používať aj ako udržateľné východiskové zlúčeniny na prípravu ďalších chemikálií s organoleptickými vlastnosťami pomocou chemických, enzymatických či mikrobiálnych procesov². Izolácia cieľových zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami z prírodných zdrojov predstavuje náročnú úlohu vzhľadom na prítomnosť mnohých ďalších zlúčenín v primárnom extrakte a tiež z dôvodu nedostatku procesných informácií. Ko-extrahované látky, ktoré majú podobné chemické a fyzikálne vlastnosti ako cieľová zlúčenina, významne ovplyvňujú účinnosť vybranej izolačnej/extrakčnej techniky³.

V úvode tohto prehľadového článku sú uvedené charakteristické vlastnosti prírodných zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami, ich význam a využitie v rôznych oblastiach priemyslu a odvetviach. Ďalšia časť sa zaoberá pokročilými technikami používanými na ich izoláciu z komplexných matric. Uvedené sú pokročilé extračné techniky v systéme tuhá fáza – kvapalina, ich výhody a nevýhody. Vybrané pokročilé extračné techniky, extrakcia podporená mikrovlnným žiarením, ultrazvukom, pulzovým elektrickým poľom či enzýmami, extrakcia tekutinou v nadkritickom stave a rozpúšťadlom pri zvýšenom tlaku, sú stručne charakterizované, dokumentované príkladmi ich využitia a podmienkami izolácie vybraných zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami. V závere je zhrnutý význam týchto metód a perspektívy do budúcnosti.

2. Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnostami

Organoleptické vlastnosti látok sú charakteristiky, ktoré je možné hodnotiť ľudskými zmyslami. Organoleptika je teda zmyslové posudzovanie, ktoré vyuzuva hlavne zmyslové vnemy na hodnotenie vlastností látok (vzhľad, vôňa, chuť, atď.). Na základě senzorického hodnotenia mono prichuť opisať ako kombináciu chuti, vone a chemických vnemov. Vo všeobecnosti existuje pať základných chutí sladkosti⁴, kyslosti⁵, slanosti⁶, horkosti⁷ a umami (výskumy naznacuju, e tuk môže tiež vyvolvat chuť⁸). Vôňa zahŕňa vnemy prezivane cez orto- a retro-nazlne cesty, napríklad vanilkové a citronove arómy. Chemesteticke (chemicky stimulovaný pocit bolesti a teploty v oku, nose, ustach a krku) vnemy aktivuju trojklanny nerv, ako napríklad pálenie od kapsaicínu z feferonok alebo chladivý mentol z maty⁹.

Vôňa má dominantnu ulohu pri ovplyvnovani ľudského apetítu. Na detekciu aromatických zlueni sa podiela približne 400 aktivnychuchovych receptorov. Prchavé zlúčeniny extrahované z rastlín sa vyuzuvaju ako prídavné látky v parfumoch, arómach a iných kozmetických vyrobnkoch, no uplatnenie majú aj v potravinárskom, farmaceutickom priemysle a poľnohospodárstve nielen ako prichute, vonei farbivá, ale aj pre ich dalsie biologické uinky, napr. antibakteriálne (linalool), antivírusové, antifungálne (geraniol), antiparaziticke (tymol), insekticídne (eugenol), analgetické (metyl salicylát), protirakovinové (kurkumín), neuroprotektívne (quercetin), psychofyziologické (arómy) a spomalenie starnutia (kurkumín) uinky¹⁰. Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnostami zahrnuju rôzne typy zlúčení, ktoré mono zaradiť do niekoľkých skupín, alkoholy, aldehydy, ketóny, estery, kyseliny, fenoly a heterocyklické zlúčeniny.

Prírodné zlúčeniny s organoleptickými vlastnostami sa najcastejie a v najvasich mnostvach izoluju z esencilnych olejov získaných vesinou destiláciou roznychasti rastlín alebo priamo extrakciou z rastlinnej hmoty. Okrem izolácie týchto zlúčení z uvedenych, tradicnych zdrojov sa začali izolovatť aj z médií z mikrobilnych procesov a z fermentačných zmesí, kde môžu byť ako primarny alebo vedľajsi produkt. Získavanie zlúčení z vedľajsich potravinarskych produktov, prípadne z „odpadu“ a biomasy/fytomasy je potencilnym a aj ekologickým prístupom do buducnosti¹¹.

3. Izolácia zlúčení s organoleptickými vlastnostami z prírodných materiálov

Chemický spracovateľský priemyseleli výzvam zameraným na vývoj nových produktov, zefektívnenie existujucich procesov smerovaných na znizenie kapitálových a prevádzkových nákladov,i zvrysenie bezpečnosti a ekologickosti postupov. V suvlosti s tým sa vo veľkej miere uprednostnuju chemikálie získavané z prírodných

materiálov. Aby sa vyhovelo uvedeným požiadavkám, je potrebný systematický prístup k navrhovaniu separačného procesu pre komerčnú izolaciu aistenie prírodných zloiek, ktoryasto pozostáva z kombinácie viacerých extrakčných/separačných techník.

3.1. Extrakcia tuhá fáza – kvapalina

Uinnosť extrakcie tuhá fáza – kvapalina (solid-liquid extraction, SLE) zavisi od typu vzorky a fyzikálno-chemických vlastností analytov. Voľba extrakčného rozpuadla suvisi s ich rozpustnosťou. Klasické SLE techniky zahrnuju maceraciu, perkolaciu (premyvanie) a extrakciu v Soxhletovom extraktore¹². Sú mnohokratasovo narocnejsie, a preto sa nahradzaju pokroelejsimi technikami, ktorychcieľom je aj zvrysiť uinnosť SLE. V oboch prípadoch sa v súčasnosti vyuzuvaju aj alternativne extrakčné rozpuadla, ktorých príklady využitia sú popísané v nasledujucich kapitolách.

3.1.1. Extrakcia podporená mikrovlnným žiarením

Extrakcia podporená mikrovlnným žiarením (microwave-assisted extraction, MAE) je rychly, uinny a aj ekonomicky výhodnejší (menšia alebo žiadna spotreba rozpuadla v porovnaní s klasickými extrakčnými metódami) proces na extrakciu látok z rastlinných materiálov. V MAE bioaktivnych zlúčení z rastlín sa mikrovlnná energia distribuuje priamo do tkanív rastlinných materiálov prostredníctvom interakcii molekúl látok s mikrovlnným žiarením (mikrovlnný výkon 350–600 W), príčom dochádza k jej premene na tepelnú energiu. Toto teplo zvrysuje medzibunkový tlak,o spôsobuje prasknutie rastlinných buniek a uvoľnovanie zlúčení do rozpuadla počas extrakcie^{13,14}.

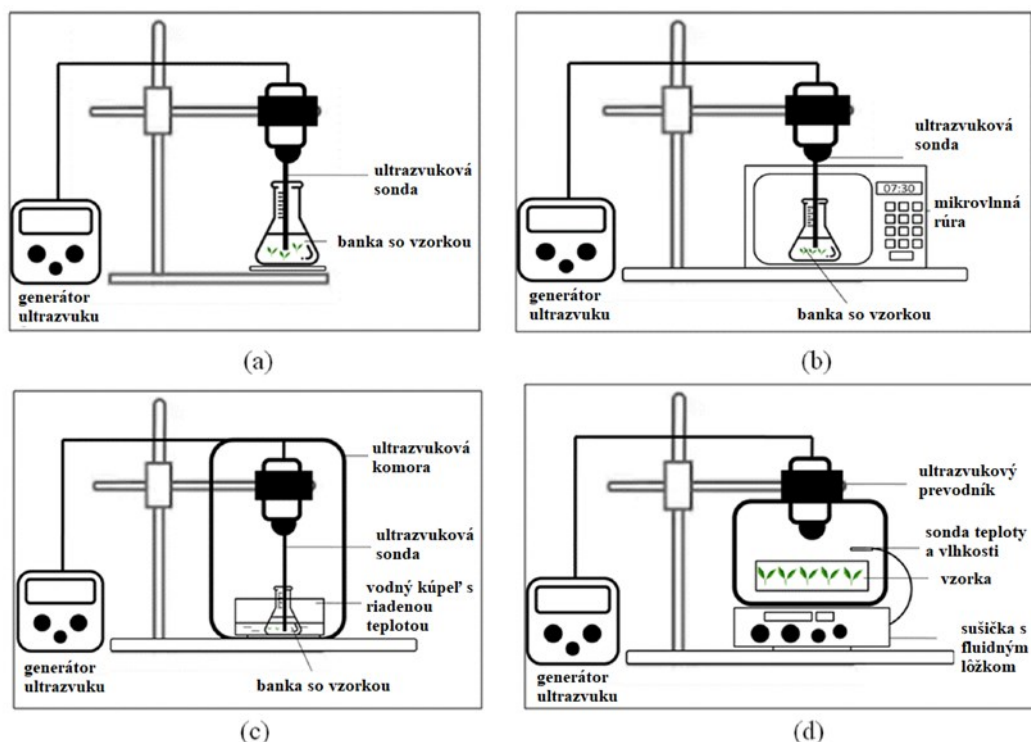
MAE je vhodnou metódou na extrakciu uinnych látok v kratkomasovom intervale (5–30 min) s použitím menšej spotreby rozpuadla. Príkladom je extrakcia fenolových látok z jablčných vyliskov¹⁵, betalainu z draieho ovocia Pitahaya¹⁶, antokyaninu z levandule (*Lavandula pedunculata* L.)¹⁷, antokyaninu a fenolových kyselin z višne Marasca¹⁸. Metóda MAE bez použitia rozpuadla sa použila na extrakciu metyleugenolu, safrolu, eukalyptolu, limonénu a borneolu z gafrovnika¹⁹ (extrakčným rozpuadlom bola voda prítomná v rastlinnom materiále). Skupina zlúčení, ako sú limonen, citral, dekanal, dodekanal, geranial, eugenol a -pinén, sa izolovala z pomaranovej kôry pomocou MAE za použitia iónových kvapalin²⁰. Voda sa použila ako extrakcneidlo pre extrakciu eukalyptolu, linaloolu a terpinén-4-olu z vavrinu praveho²¹. Uvedené zlúčeniny získané z gafrovnika a vavrinu pravého sa používaju v parfumerskom priemysle. Táto technika však nie je vhodná pre extrakciu tepelne nestabilných zlúčení, kee pôsobením mikrovlnného žiarenia dochádza aj k vyravnemu ohrevu extrahovanej zmesi. Príklady aplikácií MAE pre extrakciu zlúčení s organoleptickými vlastnostami z prírodného materiálu dokumentuje tab. I.

3.1.2. Extrakcia podporená ultrazvukom

Extrakcia podporená ultrazvukom (ultrasound-assisted extraction, UAE) zahŕňa desorpciu a difúziu rozpustenej látky z rastlinnej bunky do extrakčného rozpúšťadla. UAE umožňuje dosiahnutie vyšších výťažkov extrakcie z pórovitých substrátov v dôsledku zvýšenej solvácie a rýchlosti prenosu hmoty v rastlinnej bunke²². Výhodou UAE je dosiahnutie účinnej extrakcie v krátkom časovom intervale (5–60 min) s menším množstvom rozpúšťadla v porovnaní s klasickými extrakčnými metódami a vhodnosť aj pre tepelne nestabilné zlúčeniny, keďže sa väčšinou realizuje pri laboratórnej teplote. Avšak dlhšie extrakčné časy môžu prirodzene zvýšiť vnútornú teplotu v extrakčnej nádobe. Aplikáciu UAE (pomocou ultrazvukovej sondy) možno kombinovať s ďalšími technológiami, napr. sušením, pôsobením mikrovlnného žiarenia alebo vodným kúpeľom na zabezpečenie konštantnej teploty, ako je znázornené na obr. 1. Príklady aplikácií UAE pre extrakciu dimetyl disulfidu, diallyl sulfidu či disulfidu z cesnaku a eugenolu z klinčekov dokumentuje tab. I. Pri extrakcii spomenutých zlúčenín z cesnaku, ktoré sú zodpovedné za jeho špecifickú arómu, bol výťažok 75 %. Extrakcie podporené ultrazvukom trvali do 45 min pri teplote 25–30 °C.

3.1.3. Extrakcia tekutinou v nadkritickom stave

Extrakcia tekutinou v nadkritickom stave (supercritical fluid extraction, SFE) v porovnaní s inými extrakčnými metódami nepoužíva toxické organické rozpúšťadlá, prípadne len malé množstvo prídavného organického modifikátora. Ako extrakčné tekutiny možno využiť oxid uhličitý (kritické parametre 31,0 °C, 7,37 MPa), chlór difluórmétan (kritické parametre 96 °C, 4,94 MPa), oxid dusný (kritické parametre 36,4 °C, 7,25 MPa). Využitie chlór difluórmétanu a oxidu dusného sa v poslednom období minimalizuje pre ich nepriaznivé vlastnosti (chlór difluórmétan má nepriaznivý účinok na ozónovú vrstvu, oxid dusný vytvára výbušnú zmes)²⁴. Účinnosť extrakcie sa zvyšuje pridaním modifikátora k nadkritickej tekutine z dôvodu zvýšenia rozpustnosti cieľových analytov (najmä pri vysoko polárnych látkach). Napríklad v prípade extrakcie izo-pinokamfénu a pinokamfénu²⁵ bol použitý prídavok modifikátora, metanolu, k extrakčnému činidlu CO₂. Obsah modifikátora (napr. metanol, etanol, etyl-acetát a iné) je väčšinou v rozsahu 1–15 %, avšak závisí aj od extrakčných podmienok, typu matrice, typu rozpustenej látky a typu modifikátora. Tab. I dokumentuje príklady použitia SFE pre izoláciu zlúčenín s organoleptickými vlastnosťami. Pomocou SFE sa získali esenciálne oleje z kávovníka a zypu lekár-



Obr. 1. Spojenie ultrazvukovej technológie s inými technológiami využiteľná na spracovanie vzoriek: (a) UAE pomocou ultrazvukovej sondy, (b) ultrazvuková mikrovlnná extrakcia, (c) UAE kombinovaná s vodným kúpeľom s konštantnou teplotou, (d) ultrazvukové sušenie vo fluidnej vrstve (upravený podľa²³)

Tabuľka I

Vybrané zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami získané z prírodného materiálu pomocou pokročilých extrakčných techník

Technika	Rastlinný zdroj	Zlúčeniny s organoleptickými vlastnosťami	Extrakčné činidlo	Parametre	Výťažok [%]	Lit.
MAE	citrónovník pomarančový (kôra) (<i>Citrus sinensis</i>)	limonén, citral, dekanal, geranial, eugenol, β -pinén, dodekanal	[C2mim]OAc, [C4mim]Cl	$P = 540 \text{ W}$ $t = 20 \text{ min}$	2,1	20
MAE	gaštrovník lekárskeý (<i>Cinnamomum camphora</i>)	metyleugenol, safrol, eukalyptol, limonén, borneol	bez rozpúšťadiel	$P = 420 \text{ W}$ $t = 22 \text{ min}$	8,03	19
MAE	vavrín pravý (<i>Laurus nobilis</i>)	eukalyptol, linalool, terpinén-4-ol	H ₂ O	$P = 540 \text{ W}$ $t = 30 \text{ min}$	–	21
UAE	cesnak kuchynský (<i>Allium sativum</i>)	dimetyl disulfid, diallyl sulfid, diallyl disulfid, 1,4-dimetyl-tetrasulfid	hexán	$f = 35 \text{ kHz}$ $T = 25 \text{ °C}$ $t = 30 \text{ min}$ $V_{\text{rozp}} = 50 \text{ ml}$	75	42
UAE	klinčekovec voňavý (<i>Eugenia caryophyllus</i>)	eugenol, α -kopaén, β -karyofylén, α -humulén, acetát eugenolu	etanol:H ₂ O 50:50 (v/v)	$f = 25 \text{ kHz}$ $T = 28\text{--}30 \text{ °C}$ $t = 45 \text{ min}$ $V_{\text{rozp}} = 20 \text{ l}$	–	43
SFE	kávovník arabský (<i>Coffea arabica</i>)	2-etyl-3-metylpyrazín, difurfuryléter, 5-metyl-2-furán-karboxaldehyd	CO ₂	$p = 15\text{--}30 \text{ MPa}$ $T = 40\text{--}60 \text{ °C}$ $t = 120 \text{ min}$	< 30	44
SFE	yzop lekárskeý (<i>Hyssopus officinalis</i>)	izo-pinokamfén, pinokamfén	CO ₂ / metanol 94:6 (v/v)	$p = 10\text{--}35 \text{ MPa}$ $T = 35\text{--}75 \text{ °C}$	13,6–17,1	25
PLE	kávovník arabský (<i>Coffea arabica</i>)	pyrazíny	H ₂ O	$p = 3,45\text{--}17,24 \text{ MPa}$ $T = 40\text{--}200 \text{ °C}$ $t = 2\text{--}18 \text{ min}$	–	30
PLE	kurkuma pravá (<i>Curcuma longa</i> L.)	kurkumín	H ₂ O (pH 1,6)	$p = 5 \text{ MPa}$ $T = 90\text{--}250 \text{ °C}$ $t = 60 \text{ min}$	18	31
PLE	brazílskeý hroznový strom (<i>Myrciaria cauliflora</i>)	antokyány	cholín chlorid / propylén glykol 1:2 mol/mol	$p = 10 \text{ MPa}$ $T = 60, 90, 120 \text{ °C}$ $t = 12 \text{ min}$	45	32
PEF	hnedeá makroriasa (<i>Alaria esculenta</i>)	polyfenoly	–	$E = 7,5 \text{ kV cm}^{-1}$ $t = 0,96 \text{ } \mu\text{s}$ $N = 720$ $f = 1,2 \text{ Hz}$	1,0	33
PEF	sinice (<i>Arthrospira Platensis</i>)	fukocyanín	–	$E = 40 \text{ kV cm}^{-1}$ $U = 28, 56 \text{ a } 112 \text{ J ml}^{-1}$ $f = 2\text{--}6 \text{ Hz}$	8,5	34
PEF	ľuľok zemiakový (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	antokyaníny	–	$E = 5 \text{ kV cm}^{-1}$ $U = 135 \text{ J ml}^{-1}$ $f = 1 \text{ Hz}$	–	35
EAE	nechtík lekárskeý (<i>Calendula officinalis</i>)	karotenoidy	–	viskozým, pektinex, neutráza, koroláza	7,6	41
EAE	vanilka voňavá (<i>Vanilla fragrans</i>)	vanilín	–	β -glukozidáza a pektináza	14–21	40

[C2mim]OAc – 1-etyl-3-metylimidazoliumacetát, [C4mim]Cl – 1-butyl-3-metylimidazoliumchlorid, A – amplitúda, T – teplota, t – čas, p – tlak, E – intenzita elektrického poľa, N – počet impulzov, f – frekvencia, U – špecifický energetický príkon, P – mikrovlnný výkon

skeho obsahujúce zlcheniny ako sú 2-etyl-3-metylpyrazn a piokamfn. Vtaky nepresahovali 30 %. Hlavnm dôvodom použitia SFE je ekologickosť extraknho inidla (CO_2) a uskutočnenie pri nich a stabilnch teplotách, o je iadan napr. pri zskavan látok, ktoré pri vysokých teplotách degradujú prípadne aj na kodliv látky, no vie náklady na vybavenie sú čiastočným negatívom. Táto technika je vhodn pre získavanie cenných prírodných zlchenn, napr. lipofilnch zlchenn, ako sú éterické oleje, tokoferoly, oleje bohaté na polynenasýtené mastné kyseliny, steroly, skvaln – zloky, ktoré sa mu pouvt ako ingrediencie v potravinrskom priemysle, kozmetike a farmaceutikch²⁶.

3.1.4. Extrakcia rozptdlom pri zvyenom tlaku

Extrakcia rozptdlom pri zvyenom tlaku (pressurized liquid extraction, PLE, accelerated solvent extraction, ASE) využívá zvyen teplotu (do 300 °C) a tlak (3–20 MPa) na extrakciu cieľových zlchenn. Za tchto podmienok zostáva rozptdlo v kvapalnom stave aj pri teplotách nad bodom varu, im sa dosiahne jeho lepi prienik do štruktúry i tkanív, o vplýva na zvyenie účinnosti extrakcie²⁷. Zvyen teplota tiež zvyuje rozpustnosť a rýchlosť difzie látok. Zmenou teploty a tlaku možno dosiahnuť efektívnú extrakciu aj pomocou GRAS rozptdiel (generally recognized as safe – všeobecne uznávaných ako bezpen), ako je voda alebo etanol (napr. dielektrick konštanta (ϵ) vody pri 300 °C a tlaku 22,99 MPa má hodnotu 21, o je porovnaten s etanolom ($\epsilon = 25$) pri 25 °C)²⁸.

Podmienky PLE je potrebn prispsobt vlastnostiam cieľových analytov. Pre extrakciu látok s organoleptickými vlastnosťami je mon uskutočniť extrakciu vo viacerých sekvenčných krokoch. Prv krok sa väčšinou realizuje pri ni teplotě (napr. 40 °C) a nsledn pri zvyenej teplotě, napr. 100 °C. Tento proces me poskytnt extrakty různých skupín látok, napr. extrakt obohaten o antokyny zskan v prvom extraknom kroku a extrakt obohaten o in fenolov zlcheniny (druh krok). Niia teplota v prvom kroku zabrna tepelnej degradácii antokynov pred druhm krokom²⁹.

V prípade PLE pyraznov z pomletch kvovch zn Arabica (tab. I) sa vyuili vysok extrakn teploty (nad 150 °C), keďže vhodným extraknm rozptdlom bola voda³⁰. Ukzalo sa, že vysok teploty nie vdy negatívne ovplyvňujú vtaok tepelne nestlch prírodných bioaktvnch zlchenn. Pri extrakcii vodou pri nadkritickch podmienkach zvyenie teploty (100–374 °C) znižuje polaritu vody a zvyuje rozpustnosť cieľových zloiek, a tým aj účinnosť extrakcie. Na zlepšenie rozpustnosti analytov vo vode je vhodné upraviť pH. Jednm z príkladov je extrakcia kurkumnu z kurkumy (*Curcuma longa* L.)³¹. Kurkumn m vmi obmedzen rozpustnosť vo vode (0,6 $\mu\text{g ml}^{-1}$), avak extrakciou vodou s pH 1,6 (prava pH pomocou 0,1 mol l^{-1} HCl) pri tlaku 5 MPa a teplotě 197 °C sa dosiahlo vznamn zvyenie rozpustnosti kurkumnu (62 mg ml^{-1}), pravdepodobne v dsledku jeho disocicie ($\text{pK}_a = 7,8$). Pre PLE sa pouvj aj hlboko eutektick

rozptdl. Zmesi zloen z choln chloridu, propyln glykolu a kyseliny jabnej sa testovali pre izolovanie antokyny z bob Jaboticaba, prom sa dosiahli vtaky 45 % (cit.³²).

3.1.5. Extrakcia podporen pulzovým elektrickým poľom

Energia pulzového elektrického poľa (pulsed electric field, PEF) bola vyuit pri extrakcii látok s organoleptickými vlastnosťami zo širokej škály prírodných materiálov vrátane rias, kvasnc a iných mikroorganizmov^{33,34}, ovocia i zeleniny³⁵.

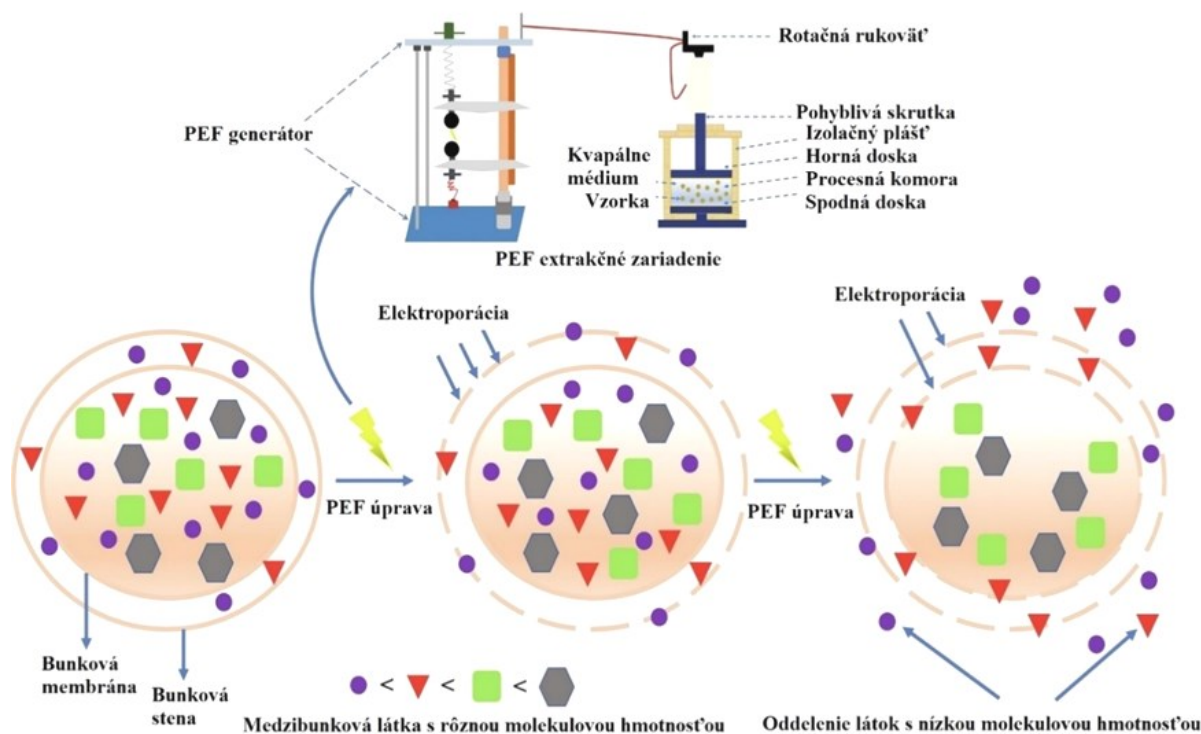
Techniky podporovan PEF sú zaloen na využití elektroporcie – vytvran prov v bunkových membrnach vplyvom elektrických impulzov s krtkym trvaním (0,96–100 μs) a naptm do 20 kV. Zvyenie elektroporcie a permeability bunkovej steny m za následok zvyenie účinnosti extrakcie (obr. 2). Účinnosť PEF závisí od parametrov, ako je intenzita elektrického poľa (0,5–40 kV cm^{-1}), počet impulzov (1–6000), trvanie alebo irka impulzu (0,96–100 μs), frekvencia impulzov (1–20 Hz). tdie ukázali, že so zvyenm intenzity elektrického poľa sa výrazne zvyil vtaok extrakcie, o me byť spsoben väčším príkonom energie, ktor uľahčuje pretrhnutie bunkovej membrny³⁶.

Príklady pouitia PEF na získanie polyfenolov z hneej makroriasy *Alaria esculenta* a fykocyannu zo sinice *Arthrospira Platensis* dokumentuje tab. I. Vtaky látok s organoleptickými vlastnosťami predstavovali maximálne 9 % a boli porovnaten s vtakami extrakcie, pri ktorej sa na rozruenie bunkovej membrány pouilo miešanie s gukami³⁴.

3.1.6. Enzýmami podporen extrakcia

Enzýmami podporen extrakcia (enzyme-assisted extraction, EAE) je zaloen na schopnosti určitých enzýmov degradovt alebo narat bunkové steny, aby sa umožnilo uvoľnenie cieľových zlchenn. Enzýmy sú vhodné aj ako katalyztory pri extrakcii a mu znit pouivanie konvennch rozptdiel. Zmes enzýmov me účinne hydrolyzovt celulzov štruktúru bunkovej steny rastn a v konečnom dsledku zvyt získané množstvo viazaných aj voľných zlchenn s organoleptickými vlastnosami³⁸. EAE m oproti konvennm extraknm metdam niekoľko výhod: mierne reakn podmienky (uskutočňuje sa pri teplotách cca do 80 °C), krtk as (niekolko minút; závisí od typu enzýmu), možnosť vyuitia celého rastlinného materiálu, proces vyahuje mení počet krokov (väčšinou jeden). Substrtov pecifickos, ktor vedie k extrakcii zlchenn s vysokou istotou, prispiev k znieniu vrobnch nákladov v porovnaní s klasickými extraknmi a separanmi metdami³⁹.

Enzýmy, ako napr. celulza, α -amylza, β -glukozidza, proteza, xylanza alebo pektinza, sa pouili na extrakciu vanilnu zo zelených vanilkovch strukov s vtakom 21 % (cit.⁴⁰) a karotenoidov z nechika lekrskeho⁴¹ s vtakom do 7,6 % (tab. I).

Obr. 2. Schematick diagram extrakcie pulzovým elektrickým poľom (upraven poda³⁷)

4. Záver a vyhliadky do budúcnosti

Práca predstavuje strun zhnutie techník pouivnch na izoláciu zluenn s organoleptickými vlastnosťami z rozličných prírodných materiálov. V súčasnosti sa zlúčeniny získavajú nie len extrakciou z esencilnch olejov, rastlín, no taktiež z vedajch potravinrskch produktov a odpadov, a aj pomocou mikrobilnch a fermentanch procesov.

Potreba zni spotrebu rozpúšťadla, skrti čas a náklady na spracovanie vzorky extrakciou, pouiv ekologick rozpúšťadlá, získať reprodukovaten výsledky a dosiahnuť vysok účinnosť extrakcie sú hlavnmi dôvodmi hadania nových i modifikácie už existujcch metód a postupov. Implementciou mikrovlnnho zarenia, ultrazvuku, pulznho elektrického poľa i enzýmov sa zlepila účinnosť a skrtil as extrakcie. Enzýmami podporn extrakcia a extrakcia pulzovým elektrickým poľom sú perspektívne do budúcnosti, pretože ide o netepelné vysokouinn technologiu. Vysok extrakn účinnosti sa taktiež dosahuj pouitm iónových kvapalín, hlboko eutektickch rozpúšťadiel a tekutín v nadkritickom stave, o umoňuje eliminov použitie toxických organických rozpúšťadiel.

Použitie danej techniky do určitej miery suvis s maticou, v ktorej sa cieov extrahovn látka nachádza. Je potrebn vybrať takú techniku, pri ktorej sa o najviac rozrui struktra matrice/tkanív rastlinného materiálu a uvoľní sa cieov analyt. S vlastnosťami a struktrou extrahovanej látky suvisia podmienky extrakcie – teplota (tepelne stabiln i nestabiln zlúčeniny), výber vhodného extraknho rozpúšťadla (miešateľnosť, rozpustnosť, polarita).

Bez ohľadu na extrakčnú techniku, na lepie pochopenie správania prenosu hmoty zluenn sa čoraz astejie vyuiva matematick modelovanie, v ktorom možno predpovedať správanie rozpustench ltlok v sub- a superkritickch mdich počas extraknch procesov. Navye, ekonomick analýza a hodnotenie ekologickosti nových procesov sú užitočné, najmä ak je cieľom zveenie (scale-up) techník pre účely získavania ltlok. Vo vine prípadov kombinácia pokročilých extraknch techník (napr. UAE s MAE) poskytuje účinnejšiu extrakciu ltlok zo zložitých mtrc. V niektorých prípadoch tiež znižujú celkov počet krokov extraknho postupu, eliminujú die procesn kroky alebo aj znižujú energetick náročnosť. Pre priemyseln uplatnenie tchto techník je vhodn ich automatizácia, online prepojenie a prípadne aj online spojenie

s metódami stanovenia cieľových látok, napr. chromatografickými metódami. Toto môže zvýšiť efektivitu práce, eliminovať chyby a vyriešiť problémy pre ciele uplatnenia.

Táto práca bola podporená Vedeckou grantovou agentúrou MŠVVaŠ SR a SAV na základe projektu VEGA (projekt č. 1/0159/20) a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-20-0317.

LITERATÚRA

- Sústriková A., Šalamon I.: *Hortic. Sci. (Prague, Czech Repub.)* 31, 31 (2004).
- Duffy I. J.: *Chemicals by Enzymatic and Microbial Processes: Recent Advances (Chemical Technology Review)*. Noyes Data Corp, New Jersey 1980.
- Van der Scharft P., v knihe: *Flavour Development, Analysis and Perception in Food and Beverages*, str. 235. Woodhead Publishing, Reading 2015.
- Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Čopíková J., Drašar P.: *Chem. Listy* 101, 44 (2007).
- Lapčík O., Wimmer Z., Opletal L., Moravcová J., Čopíková J., Drašar P.: *Chem. Listy* 109, 488 (2015).
- Lapčík O., Wimmer Z., Opletal L., Moravcová J., Čopíková J., Drašar P., Cahlíková L.: *Chem. Listy* 105, 761 (2011).
- Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Čopíková J., Opletal L., Drašar P.: *Chem. Listy* 101, 895 (2007).
- Running C. A., Craig B. A., Mattes R. D.: *Chem. Senses* 40, 507 (2015).
- Gaudette J. N.: *Encycl. Food Chem.* 1, 101 (2019).
- Zhou L., Yu C., Cheng B., Wan H., Luo L., Pan H., Zhang Q.: *Ind. Crops Prod.* 155, 112735 (2020).
- Rowe D. J., v knihe: *Natural Food Additives, Ingredients and Flavours*, str. 212. Woodhead Publishing, Cambridge 2012.
- Priego-Capote F., v knihe: *Analytical Sample Preparation With Nano- and Other High-Performance Materials*, str. 111. Elsevier, Córdoba 2021.
- Li Y., Li S., Lin S., Zhang J., Zhao C., Li H.: *Molecules* 22, 1481 (2017).
- Wei E., Yang R., Zhao H., Wang P., Zhao S., Zhai W., Zhang Y., Zhou H.: *Int. J. Biol. Macromol.* 123, 280 (2019).
- Chandrasekar V., San Martín-González M.F., Hirst P., Ballard T. S.: *J. Food Process Eng.* 38, 571 (2015).
- Thirugnanasambandham K., Sivakuma V.: *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 16, 41 (2017).
- Farzaneh V., Carvalho I. S.: *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* 6, 92 (2017).
- Elez Garofulić I., Dragović-Uzelac V., Režek Jambrak A., Jukić M.: *J. Food Eng.* 117, 437 (2013).
- Liu Z., Li H., Zhu Z., Huang D., Qi Y., Ma C., Zou Z., Ni H.: *LWT - Food Sci. Technol.* 153, 112549 (2022).
- Franco-Vega A., López-Malo A., Palou E., Ramírez-Corona N.: *Chem. Eng. Process.* 160, 108277 (2021).
- Franco-Vega A., Ramírez-Corona N., López-Malo A., Palou E.: *J. Food Eng.* 247, 1 (2019).
- Li S., Zhang R., Lei D., Huang Y., Cheng S., Zhu Z., Wu Z., Cravotto G.: *Trends Food Sci. Technol.* 109, 1 (2021).
- Yusoff I. M., Taher Z. M., Rahmat Z., Chua L. S.: *Food Res. Int.* 157, 111268 (2022).
- Vinitha U. G., Sathasivam R., Muthuraman M. S., Park S. U.: *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 118, 101815 (2022).
- Kazazi H., Rezaei K., Ghotb-Sharif S. J., Emam-Djomeh Z., Yamini Y.: *Food Chem.* 105, 805 (2007).
- Mackela I., Kraujalis P., Baranauskienė R., Venskutonis P. R.: *J. Supercrit. Fluids* 104, 291 (2015).
- Selvamuthukumaran M., Shi J.: *Food Qual. Saf.* 1, 61 (2017).
- Pimentel-Moral S., Borrás-Linares I., Lozano-Sánchez J., Alañón M.E., Arráez-Román D., Segura-Carretero A.: *Food Res. Int.* 137, 109466 (2020).
- Alvarez-Rivera G., Bueno M., Ballesteros-Vivas D., Mendiola J. A., Ibanez E.: *Liquid-Phase Extraction*. Elsevier, Cambridge 2020.
- Xu J. L., Kim T. J., Kim J. K.: *Food Chem.* 281, 261 (2019).
- Euterpio M. A., Cavaliere C., Capriotti A. L., Crescenzi C.: *Anal. Bioanal. Chem.* 401, 2977 (2011).
- Benvenuti L., Ferreira Zielinski A. A., Salvador Ferreira S. R.: *Food Chem.: X* 13, 100236 (2022).
- Einarsdóttir R., Þórarinsdóttir K. A., Aðalbjörnsson B. V., Guðmundsson M., Marteinsdóttir G., Kristbergsson K.: *J. Appl. Phycol.* 34, 597 (2022).
- Jaeschke D. P., Mercali G. D., Marczak L. D. F., Müller G., Frey W., Gusbeth C.: *Bioresour. Technol.* 283, 207 (2019).
- Puértolas E., Cregenzán O., Luengo E., Alvarez I., Raso J.: *Food Chem.* 136, 1330, (2013).
- Naliyadhara N., Kumar A., Girisa S., Daimary U. D., Hegde M., Kunnumakkara A. B.: *Trends Food Sci. Technol.* 122, 238 (2022).
- Jiang Y., Xing M., Kang Q., Sun J., Zeng X., Gao W., Li H., Gao Y., Li A.: *Food Chem.* 383, 132304 (2022).
- Shen D., Kou X., Wu C., Fan G., Li T., Dou J., Wang H., Zhu J.: *Food Chem.* 357, 129747 (2021).
- Gligor O., Mocan A., Moldovan C., Locatelli M., Crişan G., Ferreira I. C. F. R.: *Trends Food Sci. Technol.* 88, 302 (2019).
- Ruiz-Terán F., Perez-Amador I., López-Munguía A.: *J. Agric. Food Chem.* 49, 5207 (2001).
- Barzana E., Rubio D., Santamaria R. I., Garcia-Correa O., Garcia F., Ridaura Sanz V. E., López-Munguía A.: *J. Agric. Food Chem.* 50, 4491 (2002).
- Kimbaris A. C., Siatis N. G., Daferera D. J., Tarantilis P. A., Pappas C. S., Polissiou M. G.: *Ultrason. Sonochem.* 13, 54 (2006).
- Alexandru L., Binello A., Chemat F., Cravotto G., Giordana L.: *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 20, 167 (2013).

44. Hurtado-Benavides A. M., Dorado D., del Pilar Sánchez-Camargo A.: J. Supercrit. Fluids 113, 44 (2016).

V. Výboňová^{a,b} and K. Hroboňová^a (^a *Slovak University of Technology in Bratislava, Faculty of Chemical and Food Technology, Institute of Analytical Chemistry, Bratislava*, ^b *Axxence Slovakia s.r.o., Bratislava, Slovakia*): **Isolation of Natural Compounds with Organoleptic Properties Using Selected Advanced Extraction Techniques**

This review presents an overview of various advanced solid–liquid extraction techniques used for extraction of compounds with organoleptic properties from natural sources. These compounds are important additives to food, cosmetic, and pharmaceutical products. The most frequently used techniques are ultrasound assisted extrac-

tion and microwave assisted one, but there are other efficient techniques, such as pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction, pulsed electric field and enzyme assisted extraction. These techniques reduce or eliminate the volume of toxic solvents required for extraction, decrease the extraction time and mostly are more energy efficient. Low energy extraction conditions (pulsed electric field and enzyme assisted) can better preserve the compounds sensitive to heat, pH, and light.

Keywords: organoleptic properties, natural materials, solid–liquid extraction

Acknowledgements

This work was supported by grants from the Scientific Grant Agency of the Slovak Republic (Project VEGA Nr. 1/0159/20) and by the Slovak Research and Development Agency under the contract number APVV-20-0317.

O LESNÍM ENTHEOGENU

MICHAL JURÁŠEK^a, LUBOMÍR OPLETAL^b a PAVEL DRAŠAR^a^a Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Katedra farmakologie a farmaceutické botaniky, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Česká republika

jurasekm@vscht.cz, opletal@faf.cuni.cz, drasarp@vscht.cz

Došlo 26.4.23, přijato 9.5.23.

Článek popisuje muchomůrku červenou (*Amanita muscaria*) v zrcadle historie, přírodní medicíny, obsahových látek, toxicity a v souvislostech s šamanskými, rituálními a náboženskými praktikami s tím, že důrazně varuje před jakýmkoliv experimentováním s požíváním houby samotné, či přípravků z ní připravených, pro kteréžto varování uvádí vědecké důvody.

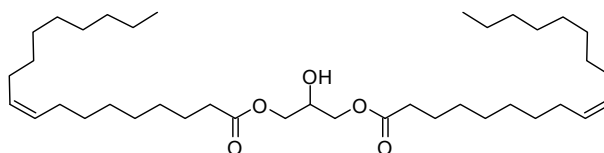
Klíčová slova: muchomůrka, *Amanita muscaria*, soma, toxicita, halucinogen, rozpustnost, logP

Vše začalo před dávnými a dávnými časy. Řada archeologických důkazů naznačuje, že lidé mají od prehistorických časů sklon používat psychedelické drogy v náboženském a/nebo uzdravovacím kontextu. Jako důkaz takového použití psychomimetických hub můžeme jmenovat obrazy a sochy zobrazující mj. stylizované humanoidy s houbovými rysy¹. Nějakou dobu po poslední době ledové v severském lesním pásmu, mezi březovými stromy, našli naši předkové preferovaný mykorrhizní symbiont tohoto stromu – nádherné muchomůrky s červenobílými klobouky (muchomůrka červená, *Amanita muscaria* var. *muscaria* (L.) Lam. (Amanitaceae), obr. 1, cit.²). Poté, co pozorovali, že houba měla zajímavý účinek na soby, kteří, když ji požřeli, upadli do jakéhosi transu, to zkusili také. Tak začalo náboženské, mystické a rekreační použití této psychedelické houby, která pokračuje do sou-

Obr. 1. Muchomůrka červená, *Amanita muscaria* var. *muscaria* (L.) Lam. (Amanitaceae)²

časnosti v několika regionech světa^{3,4}. Z kruhů ugrofinských šamanů se znalost rozšířila mj. do védských, tibetských, budhistických a dalších obřadů, jako nápoj bohů, soma (ze sanskrtského mačkat, drtit).

V našich krajích však mnohem prozaičtěji hospodyňky braly klobouky houby, které pak máčely ve sladké vodě či mléce, a posypaly je cukrem. Sladká pochutina pak nalákala mouchy, které se jejím požitím otrávil; proto se česky houba jmenuje muchomůrka, neb umoří mouchy. Nutno poznamenati, že jakkoliv je lákavý tvar muchomůrka (podle vzoru Vochomůrka), správně je pouze muchomůrka⁵. Jiná teorie tvrdí, že hmyz láká v houbě obsažený 1,3-diolein (2-hydroxypropan-1,3-diyl-di(9Z)-oktadec-9-enoát)⁶.



1,3-diolein

Ale zpět do historie, staří Indoevropané nazývali muchomůrku, či její výluh „maga“ (velký dar, údajně se od tohoto slova odvozují výrazy jak magie a mág), Rgvéda nejstarší klasický text staroindického vědění, pocházející z doby před asi třemi a půl tisíci lety (Rg Veda 8.48.3) pak o ní říká^{7,8}:

*Pili jsme somu a stali jsme se nesmrtelnými,
světlo jsme dosáhli, bohy objevili.*

Jakou škodu může zloba nepříteli způsobit, aby nám ublížila?

dále pak (Rg Veda 8.68.1):

Toto zde je soma, ničím omezená, aktivní, vše dobývající, rozvíjející vědění pro jasnovidce a mudrce. Všechny

no, co je holé pokrývá; všechny nemocné léčí: slepý muž vidí, zmrzačený chodí.

Během obřadů a používání se experimentálně zjistilo, že je možno žádoucí intoxikace dosáhnout i požitím moči jedinců požívších muchomůrku, přičemž moč je možno takto recyklovat až pětkrát, kterážto „mystická“ moudrost byla známa jak uživatelům, najmě šamanům na Sibiři⁹, kterým ji původně sdělil mytický Velký krkavec (Quikinnáqu), tvůrce vesmíru¹⁰, Vikingům, tak také některým Indiánům Severní Ameriky a mnoha dalším kulturám, včetně čínské, japonské¹¹, až do maloasijské¹². Šamani a kněží též zjistili, že naopak jsou po průchodu organismem metabolizovány některé emetické složky obsažené v muchomůrkách a že tudíž recyklovaná moč je do jisté míry užitečnější, než samotná muchomůrka či její prvotní výluh. Darováním moči k sobě pak vázali nevědomé soukmenovce. Recentní zdroje uvádějí, že důvodem „kvality“ moči je metabolicky způsobená dekarboxylace ibotenové kyseliny¹³.

Účinnost extraktu z muchomůrek byla známa i védským kněžím, kde je taková intoxikace ve starobylé literatuře spojována s bájným nápojem „soma (též amrita, haoma)“, nektarem nesmrtelnosti, jemuž jsou připisovány magické vlastnosti alchymické medicíny. Nápojem, který vyvolává pocity božskosti (entheogen)¹⁴, který má silný psychotropní efekt s pocitem „nesmrtelnosti“, euforie a létání. Staré texty explicitně spojují požití muchomůrek s levitací. Muchomůrky údajně požívali před bitvou bojovníci evropského severu (Berserkové), kteří pak údajně necítili bolest a ve svém stavu nekontrolovatelné zběsilosti byli imunní vůči ohni i kovu¹⁵, neb, jak říká (o haomě) také staroperská Yasna¹⁶: ... *Haoma přináší sílu a rychlost válečníkům v sedle, ... poskytuje studujícím (jak mnoho jich!), více znalostí a více moudrosti* ...

Klasik definuje¹⁷ psychedelickou drogu jako prostředek, který, aniž by způsobil fyzickou závislost či touhu, závažné fyziologické poruchy, delirium, dezorientaci nebo amnézii, více či méně spolehlivě tvoří myšlenky, nálady a změny percepce, jinak zřídka zažívané s výjimkou snů, kontemplativní a náboženské vytržení, záblesky živých nedobrovolných fragmentů paměti a akutní psychózu. Muchomůrka se podle mnohých tomuto ideálu blíží. Pověst praví, že zářijové muchomůrky jsou prý narkotické, srpnové vizionářsky psychedelické.

O (svých) zkušenostech s muchomůrkami zajímavě píše Mika Waltari¹⁸, případně Lewis Carrol (Charles Lutwidge Dodgson)¹⁹. Dlouze dokázal o psychoaktivitě muchomůrek vyprávět i známý drogový experimentátor Jiří Glos, alias Freud^{20,21}, vulgo Obrázek. Snil o tom, že muchomůrka, „by mohla být takové české LSD“, jenom kdyby se podařilo nějak odstranit látky, které působí emeticky; nestačilo mu, že antiemeticky docela dobře působí kouření marihuany, on to chtěl mít čistoučké, což by se mu asi nepovedlo, protože sám muscimol je v konečné fázi sedativní (ačkoliv je to velmi silný agonista GABA_A), je opojný, halucinogenní, ale i vzbuzující somatickou reakci zahrnující nevolnost a zvracení²², a trik s močí neznal.

O Jiřím Glosovi (*1947) pověst praví, že přivedl na

českou scénu v polovině minulého století pervitin, ač údajně nedostudovaný geolog, měl již v mládí takové znalosti z chemie, že by složil na vysoké škole zkoušku z pokročilé organické chemie i farmakologie. O jeho zápiscích, údajně, s povzdechem prohlásili lékaři, že byl ve výzkumu psychoaktivních látek dvacet let před nimi, protože zatímco on experimentoval na lidech, oni na králících.

Jako každá věc, má toto rub i líc. Požití muchomůrky či extraktů z ní však také vyvolává další příznaky, včetně pocení, nevolnosti, svalového škubání a sluchových nebo vizuálních halucinací, podstatné jsou i toxické a potenciálně fatální vlastnosti v houbě obsaženého muskarinu¹⁴. Další potíž je v tom, že požití halucinogenů může vést k čemusi, co se v angličtině označuje jako „bad trip“ (stav, kdy člověk po užití halucinogenu zažívá (velmi) nepříjemné vjemy), či k stavu deliria nebo k opakujícím se poruchám vnímání (tzv. flashback, tj. záblesk z minulosti, při kterém se člověk chová tak, jako by se v minulosti prožítá situace (intoxikace) nebo nepříjemná událost znova opakovala)²³.

Nicméně, jak jsme psali v článku o muškátovém oříšku²⁴, Andrew T. Weil²⁵ říkával: „*Osoby, které používají narkotika, jsou často ochotny trpět extrémním diskomfortem pro pár příjemných okamžiků, vyvolaných (omamnými) drogami*“.

K tomu je třeba dodat, ze současného pohledu psychedelika nejsou narkotiky, mj. proto, že narkotika jsou většinou spouštěči závislosti, což psychedelika nejsou a extra významný diskomfort po jejich aplikaci zpravidla není. Negativní aspekty působení muchomůrek však lze do jisté míry eliminovat. Již jsme zmínili průchod organismem a marihuany, podívejme se dále. Klasikové uvádějí, že je nutno macerovat houbu sušenou, potažmo její klobouk samotný, nejlépe s co nejvíce bílých zbytků pochvy (obalu). „S výhodou“ se sušený klobouk maceruje ve vodě, mléce, nebo ovocné šťávě. Sušení téhož se doporučuje¹² na mírném teple, 35–50 °C, dokud materiál není zcela suchý (snadno se láme a drolí), což prý radikálně změní chemické složení houby, a výsledkem je pak aromatický produkt sladké příjemné chuti, který je plně použitelný a dobře skladovatelný. Poté se v dobrém obalu před použitím skladuje 2–3 měsíce. Samozřejmě, jedna větev úprav muchomůrky vede k „ideálně“ použitelné substanci k navození halucinogenního stavu, druhá k neškodné, voňavé potravíně.

Recept na přípravu „jedlé“ muchomůrky cituje Pearson²⁶: Chcete-li připravit *Amanita muscaria* k bezpečnému jídlu (upraveno): (1) pečlivě oloupejte klobouk a odstraňte každý kousek korové vrstvy; (2) nakrájejte na malé kousky; (3) vložte kousky do vroucí vody a vařte přesně pět minut; (4) sceďte důkladně vodu a znovu vařte v čerstvé, vroucí vodě po dobu dalších pět minut; (5) odstraňte vodu a obvyklým způsobem připravte houbu. (Autor z bezpečnostních důvodů radí pečlivě likvidovat vodu, použitou k extrakci.) Chemika varuje, že neuvádí množství vody ani to, zda „předvařená“ muchomůrka měla ještě jakoukoliv biologickou aktivitu, kromě houbové vůně

a chuti. Asi nikoli, protože hledači snů si červené korové vrstvy (exokarpu) cení nejvíce. Připravit muchomůrku bez jejích hlavních alkaloidů se jeví zcela reálné, pokud přihlídneme k rozpustnosti podstatných složek. Rozpustnosti ve vodě jsme v literatuře nenašli, proto jsme je modelovali pomocí programu ADMET Profiler²⁷: muskarin 129 mg ml⁻¹ (logP=2,93), ibotenová kyselina 467 mg ml⁻¹ (logP=0,85), muscimol 1000 mg ml⁻¹ (logP=0,92), muscazon 305 mg ml⁻¹ (logP=0,60).

Klasický postup přípravy somy zahrnoval tři stupně²⁸: sušení na sluníčku, extrakci a filtraci přes organismus. Známý farmakoetnograf František Šita²⁹ ve svém pojednání o somě píše: *Postup přípravy (somy) začínal očištěním drogy (muchomůrek) vodou, jejím rozdrčením mezi kameny a zalitím drti vodou. Tento postup se několikrát opakoval. Potom byla kapalina odlita, zbytek vymačkán, a takto získaná tekutina přidávána k dřívě získané. Nyní nastával vrcholný okamžik. Spojený surový macerát byl filtrován přes plátno. Jasně žlutý filtrát představoval při svém objevení zjevení samotného božstva. Získaná tekutina byla před požitím smísená s mlékem, vodou nebo rozpuštěným máslem s medem, případně odvarem z vrbovky úzkolisté (*Epilobium angustifolium*, rostliny široce používané k přípravě povzbuzujícího nálevu na Rusi před příchodem čajové kultury) či šťávou z bažinné borůvky vložyně bahenní (*Vaccinium uliginosum*, drogy známé pro navození psychomotorického neklidu a pocitů závratí či mírné halucinogenní účinnosti; má se nicméně za to, že zásadní podíl na účincích nemá rostlina samotná, ale metabolické produkty parazitické houby hlízenky vložynové (*Sclerotinia megalospora*), která ji napadá³⁰). Dodejme k tomu citát z práce Feeneyho³¹: Vzhledem k obtížnému rozpouštění kyseliny ibotenové ve studené vodě může mít extrakt ve studené vodě koncentrace této kyseliny nižší než extrakt ve vodě horké, a tudíž je sníženo riziko zvracení.*

Šita nám dále přibližuje chronologii účinku muchomůrek, je to natolik zajímavý text, že jej přinášíme beze změny, jakkoliv k němu lze mít připomínky: *Dávka muchomůrky červené, která působí otravu průměrného zdravého člověka, je asi 20–40 g. Na otravu umírají nejméně dva lidé ze sta. Obsahové látky se mění v závislosti na místě výskytu houby. Proto důrazně varujeme před neuváženými pokusy s houbou, které by velmi pravděpodobně měly ty nejtěžší následky. Popíšme si průběh otravy muchomůrkou u těch šťastných, kteří ji přežili. Hleděme motivy souhlasící, nebo odporující popisu otravy somou... První příznaky otravy se objevují v průměru za půl až dvě hodiny po požití houby. Postižený cítí vysychání v hrdle a v ústech, má ztížené polykání, přichází pocit „zatažení dechu“. Následuje nevolnost až tlak v žaludku, podobně jako při přejedení. Objeví se pocit tepla až nepříjemně intenzivní. Postižený touží po ochlazení. Srdce začíná silně bušit. Objeví se poruchy vnímání. Do dálky je vidět nezvykle ostře, jasně, a to i při slabém osvětlení. Obraz je zdánlivě plastický, černobílý. Může se však objevit i vidění žluté, modré nebo fialové. Zdá se, že se blízké předměty zvětšují. Na blízko je vidět stále nejasněji, postižený není schopen psát. Nastává hyperakusie: otrávený se například*

domnívá, že slyší zvuk hodin z vedlejšího pokoje. Objeví se poruchy hmatu, brnění v končetinách, pak necitlivost. Pokrmu a nápoje se zdají bez chuti. Tento popis otravy odpovídá periferním účinkům obsahových látek muchomůrky. Vliv jedů na centrální nervový systém se rozvíjí dále. Počátkem je bolest hlavy, hučení v uších a pocit prázdnoty v hlavě, pak otáčivá závrať. Končetiny se zdají být „lehčí než papír“, někteří otrávení mají pocit, že jsou nadnášeni nebo hnáni vpřed neznámou silou, dostavuje se i pocit létání. Současně se objeví ztráta svalové síly. Postižený neudrží ani lehké předměty v ruce. Nastávají záškluby svalstva končetin a trupu. Otrávený je stále v kontaktu s okolím, uvědomuje si skutečnost svého stavu, má vzrušenou náladu, je mnohmluvný, častokrát opakuje slova nebo celé věty, které uslyšel v okolí. Vzrušení se stupňuje, postižený ztrácí vědomí a kontakt s okolím. Co prožívá od tohoto okamžiku ve formě snů, dovede obvykle popsat jen zčásti, nebo i vůbec ne. Jeden nemocný vyprávěl, že „existoval ve formě dvou osob, z nichž jedna pozorovala, co dělá druhá“ – toto stadium otravy končí někdy delirantním obrazem, ve kterém může i agresivně vystupovat vůči svému okolí. Po vybití sil nemocný zmalátní, a pak upadne spíš do bezvědomí než spánku. Klidně leží, tělesná teplota klesá, dýchání je rychlé a ztížené. Objevuje se modrána. Zde je smrt nejbližší. Fantastičnost snů otrávených vystihují výroky jako „viš, vstal jsem z mrtvých, žiju“ nebo „tak já jsem se vrátil, byl jsem na onom světě“. Po myslný návrat ze záhrobní je ličen často. Další postižený si připadal umístěn ve velké bílé kouli závrtnou rychlostí se otáčející mezi rotujícími červenými koulemi. Otrava trvá asi 24 hodin. Období uzdravování začíná probuzením, nemocný se na nic nepamatuje, nebo si je vědom, že přestál těžký snový stav. Pociťuje bolesti hlavy, ochablost, má depresivní náladu. Poruchy vidění mohou trvat i několik dní. Nejčastější příčinou smrti při otravě muchomůrkou červenou je – podle řady dalších komplikací – selhání srdce nebo bronchopneumonie.

Výzkum obsahových látek muchomůrky červené zahájili už v roce 1869 Schmiedeberg a spol.³² a v roce 1875 publikovali strukturu³³ a o rok později syntézu³⁴ prvé izolované látky; získali jedovatou látku, která dostala později jméno muskarin. Při podkožní injekci 1–3 mg působila slinění, pocit tlaku v hlavě, změny srdeční činnosti, nevolnost, červenání v tváři, závratě, úzkost, pocení a křeče. Halucinogenní efekt se neprojevil ani při zvýšení dávek na 100–200 mg, kdy vznikala už nebezpečná otrava. Smrtelná dávka je vyšší než 300 mg. Teprve o sto let později popsali Eugster a spol. ve Švýcarsku³⁵ a Takemoto a spol. v Japonsku³⁶ objev další účinné látky z muchomůrky červené. Byla to kyselina ibotenová a její rozkladný produkt muscimol. Farmakologický účinek obou látek je velmi blízký. Po dávce 10–15 mg popisovali dobrovolníci zmatenost, dezorientaci v prostoru i čase, zvětšené vidění předmětů, zrakové i sluchové halucinace, třes až svalové křeče. Nakonec usínali. Obraz otravy muchomůrkou je tak syntézou účinku muskarinu, kyseliny ibotenové s muscimolem i stavu organismu, na který houba působí. Proto nemůže být zcela přesně zpodobněn pokusným po-

dáním čistých izolovaných látek. V roce 1967 pak oba, Eugster a Takemoto, položili základ názvosloví obsahových látek muchomůrek³⁷.

Zajímavý je popis intoxikace od Donalda E. Teetera¹², podobně podrobný jako popisy Shulginovy³⁸: *Koupil jsem několik sušených vzorků Amanita muscaria prostřednictvím poštovní objednávky. Při otevření sáčku mě zasáhla nepříjemnější vůně. Někde v mém těle kliknul starý přepínač, jako by moje tělo mělo předchozí zkušenost s tím, co bylo v mých rukou. Zkouška potvrdila, že droga chutnala stejně, jako voněla. Nebylo to vůbec hořké nebo ošklivé, ale sladké, vlastně chutné.*

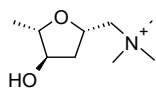
Požil jsem asi 1,75 g. Účinky byly velmi mírné; Mírná euforie; Mírné zvýšení okolního světla, tyto příjemné účinky trvaly asi 3 hodiny. O týden později jsem požil 3,5 g. Výraznější účinky: obecný vnitřní klid, velmi uklidňující; vizuální iluze barvy, modrá je obzvláště brilantní; zvlněné zorné pole; mírné problémy s chůzí; měnící se barevné vzory se zavřenými očima. Asi po 2 hodinách: ospalost, musel jsem si lehnout se zavřenými očima, mimořádně vizuální iluze, vnitřní smysl pro mír, 4,5 hodiny po požití se cítím odpočinutý a zpět v normálu. O týden později, 7 g. Mnohem výraznější efekty s rychlejším nástupem: setmělá místnost je světelně brilantní, chodím jako opilý a musím si lehnout. Asi po 2 hodinách: vidím intenzivní vzory perského koberce za zavřenými očima, mám velký pocit vnitřního míru, pociťuji nějaké sluchové vjemy. Jeden týden poté jsem požil 14 g, velmi rychlý nástup, jen pár minut. Po asi 1 až 1,5 hodině jsem musel ulehnout: extrémní vnitřní klid; nepopsatelné osvětlené vize; extrémně složité sluchové účinky, od slyšeného vyprávění vizí po složité „výroky nebo učení“, lépe to vyjádřit neumím. Zkušenost nebyla úplně stejná jako při vnímání mluveného slova; k

otázkám jsem znal odpovědi; někdy pak vize ilustrovaly odpovědi! V určitém okamžiku jsem se duchovně vydal na místo, které mohu nazvat pouze jako království. Všechno viděné bylo osvětleno vnitřním světlem. Tato vize byla soudržný celek se začátkem, prostředkem a koncem. Vizuální a sluchové efekty ustoupily asi po 4,5 hodinách. Za 6 hodin po požití jsem se cítil odpočinutý a fyzicky omlazen. Tento pocit fyzické pohody trval asi 14 dní po aplikaci. Teeter dále popisuje, že se po aplikaci zbavil celé řady neduhů, včetně bolestí kloubů.

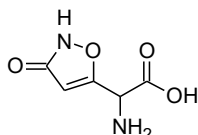
Podívejme se tedy na hlavní látky v houbě obsažené^{22,39–41}. Mezi hlavní látky můžeme uvést silně toxický muskarin (LD_{50} (myš) $0,23 \text{ mg kg}^{-1}$)⁴², který je parasympatomimetikem, zjednodušeně řečeno ovlivňuje hladinu acetylcholinu, působí na muskarinové receptory a způsobuje křeče hladkého svalstva střev, dělohy, močového měchýře a bronchů, pocení, slinění, slzení, bolesti žaludku a nucení na zvracení; nicméně jeho obsah v muchomůrkách je nízký, kolem 0,002–0,02 % suché hmotnosti plodnic.

Dále pak kyselinu ibotenovou (LD_{50} (krysa) až 129 mg kg^{-1} , obsah v sušině klobouku kolem 1 %) ⁴³, která je rozpustná ve vodě a při sušení drogy dekarboxyluje⁴⁴ na muscimol v droze též obsažený. Je látkou, která přechází přes hematoencefalickou bariéru, pak je dekarboxylována. V mozku sama působí jako silný neurotoxin. Strukturně je příbuzná s glutamovou kyselinou a aktivuje receptory NMDA, nezdá se však, že by se jí daly připsat psychoaktivní vlastnosti muchomůrek.

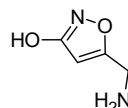
Muscimol (agarin, pantherin, obsah v sušině klobouku kolem 0,09 %) je agonistou GABA_A receptorů (LD_{50} (krysa, p.o.) 45 mg kg^{-1}) zřejmě nejvíce spojovaný s psychoaktivními a psychedelickými účinky a funguje



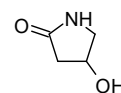
muskarin



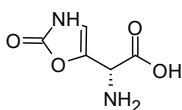
ibotenová kyselina



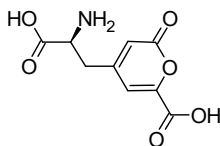
muscimol



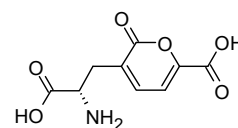
4-hydroxypyrrolidin-2-on



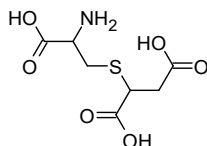
muskazon



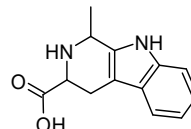
stizolobová kyselina



stizolobinová kyselina



2-amino-3-(1,2-dikarboxyethylthio)propanová kyselina

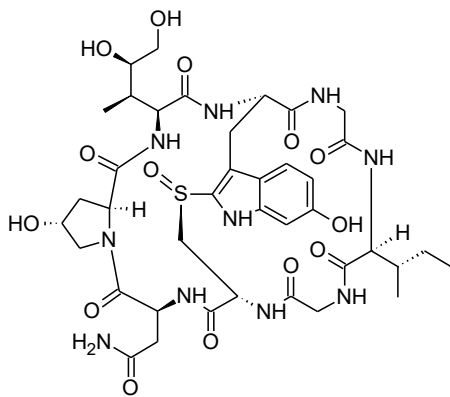


tetrahydroharman-3-karboxylová kyselina

jako primární inhibující neurotransmitter. Působení je podobné jako u alkoholu, navíc působí halucinogenně.

Další látkou je muskazon, je zřejmě tvořen fotochemickou reakcí z ibotenové kyseliny, někteří autoři soudí, že jde o izolační artefakt. Obáváme se však, že tomu tak nebude. Převést 1,3-oxazol-2-on-5-ylový derivát na 1,2-oxazol-3-on-5-ylový při pouhé extrakci vodou se nám zdá nanejvýš nepravděpodobné. Jeho toxicitu ACD/Percepta²⁷ odhaduje LD₅₀ na 180 mg kg⁻¹ (myš s.c.; nejnížší údaj); jeho psychoaktivita je nízká. Dále byly nalezeny kyseliny stizolobová a stizolobinová, tetrahydroharman-3-karboxylová kyselina a 2-amino-3-(1,2-dikarboxyethylthio)propanová kyselina. Další složky jsou antibakteriální a antimykotický 4-hydroxypyrrolidin-2-on, řada beta-glukanů, nejímě imunomodulační AM-ASN, antioxidační tokoferoly, stopy tropanových alkaloidů, stopy vysoce toxických amatoxinů a phallotoxinů (typické látky zejména pro *A. phalloides*), bufotenin (5-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptamin), barviva, aminokyseliny atd. Hlavní součástí klobouku je přibližně 90 % vody. Muscimol je ve shodě s názvem kreslen jako oxazolový enol; stejně jako ostatní deriváty si jej, podle podmínek, umíme představit v obou formách, i existenci některých v zwitteriontové podobě. Přidružujeme se obvyklé literární podoby vzorců.

Několik autorů udává, že k toxicitě muchomůrek, a *A. muscaria* v to počítaje, přispívají mykotoxiny, jako např. α -amanitin (α -amatoxin), i když jejich obsah v (zřejmě čerstvé) houbě je nižší než 1 mg kg⁻¹, což při střední letální dávce 0,5–1 mg kg⁻¹ (cit.^{45,46}) znamená, že pokud by se chtěl člověk otrávit α -amanitinem z *A. muscaria*, musel by spořádat pořádnou smaženici. V jiných muchomůrkách je obsah mykotoxinů mnohem vyšší, toxicita *A. muscaria* je z tohoto aspektu relativně nízká⁴⁷.



α -amanitin

Zkušenosti uživatelé varují před současným požitím nápojů s oxidem uhličitým, neboť mají za to, že ibotenová kyselina, která je při sušení dekarboxylována na muscimol, který může být působením kyseliny uhličitě převeden z muscimolu zpět na kyselinu ibotenovou¹², což je myšlenka svůdná, leč pro chemika přinejmenším podivná, ale příroda jest mocná čarodějka. Je třeba však před muchomůrkou znovu varovat, neb i když intoxikace odez-

ní bez větších zdravotních problémů, stále potom hrozí řada komplikací, které se mohou objevit později: respirační a kardiovaskulární problémy, selhávání ledvin, rhabdomyolýza nebo nádorová onemocnění⁴⁸.

O muchomůrce *Amanita muscaria* uvádí Erowid 30 článků⁴⁹. SciFinder na dotaz „amanita“ poskytuje 3494 článků, které se po zpřesnění dalším dotazem „muscaria“ ztenčí na 803 citací, přičemž jejich četnost začala narůstat v 50. letech minulého století. Existuje i celá řada zdrojů tzv. šedé literatury, jako např. materiály tzv. České psychedelické společnosti, která má podle obchodního rejstříku 4 funkcionáře a celkem 4 členy, a mnoha dalších skupin a spolků. Snažíme se tímto článkem přispět k poznání skutečnosti, čerpané především z odborné literatury. Přinášíme i tento příspěvek jako další článek do série učebních textů popisujících různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek^{50–52} i proto, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, polopравd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Je nabíledni, že zkoumání přírodních látek, jakožto látek z obnovitelných zdrojů, je jednou z cest, jak laciným a efektivním způsobem přispět ku všeobecnému prospěchu^{53,54}.

Závěrem lze poznamenat, že souhlasíme s výrokem ChatGPT⁵⁵, kde jsme se zeptali na názor k výše popsané problematice: „Je důležité poznamenat, že konzumace muchomůrek může být nebezpečná a může vést k vážným zdravotním problémům. Mnoho jedinců po požití muchomůrek cítí nevolnost, zvracejí, trpí silnými bolestmi břicha a závratěmi. Dále může být nebezpečné podcenit účinky houby a podlehnout halucinacím, což může vést k rizikovému chování a úrazům. Z těchto důvodů se konzumace muchomůrek nedoporučuje a měla by být ponechána pouze pro výzkumné účely pod dozorem zkušených vědců a lékařů.“

LITERATURA

1. Froese T., Guzmán G., Guzmán-Dvalos L.: Econ. Bot. 70, 103 (2016).
2. https://www.freepik.com/free-photo/amanita-muscaria-illustration-from-medical-botany-1836_3533340.htm, staženo 8. 2. 2023.
3. Wasson R.G.: *Soma: Divine Mushroom of Immortality*. Harcourt, Brace, Jovanovich, New York 1968.
4. Hajicek-Dobberstein S.: J. Ethnopharmacol. 48, 99 (1995).
5. <https://www.pravopisne.cz/2019/12/muchomurka-x-mochomurka/>, staženo 12. 2. 2023.
6. Benjamin D. R.: *Mushrooms Poisons and Panaceas: A Handbook for Naturalists, Mycologists, and Physicians*. W. H. Freeman & Co., New York 1995.
7. Bhaktivedanta Vedabase: <https://vedabase.io/cs/library/sb/10/87/36/>, staženo 7. 2. 2023.
8. Complete Rig Veda in English (Sakala Shakha): <https://archive.org/details/rigvedacomplete/page/n839/mode/2up>, staženo 8. 2. 2023.
9. Нам Е. В.: Вестник Томского государственного университета 403, 87 (2016).

10. Jochelson W.: *Am. Anthropol. New Ser.* 6, 413 (1904).
11. Dannaway F.: *J. Psychoact. Drugs* 41, 67 (2009).
12. Teeter D. E.: *Amanita Muscaria; Herb of Immortality*. Ambrosia Society, Yager Lane Manor Texas 2005; http://en.psilocosphy.info/amanita_muscaria_herb_of_immortality.html, staženo 8. 2. 2023.
13. Lee M. R., Dukan E., Milne I.: *J. R. Coll. Physicians Edinb.* 48, 85 (2018).
14. Walker S., Brightmore G.: *Educ. Chem. (London, U. K.)* 47, 49 (2010).
15. Vlčková J.: *Encyklopedie mytologie germánských a severských národů*. Libri, Praha 2006.
16. Avesta Yasna: *Sacred Liturgy and Gathas/Hymns of Zarathushtra*. <http://www.avesta.org/yasna/#y9>, staženo 8. 2. 2023.
17. Grinspoon L., Bakalar J. B.: *Psychedelic drugs reconsidered*. Basic Books, New York 1979.
18. Waltari M.: *Čtyři západy slunce* (orig. *Neljä päivän-laskua*). Vyšehrad, Praha 1976.
19. Carrol L.: *Alenka v říši divů*. Grada, Praha 2010.
20. Šantúrová K., Singer F.: *Newsweek* 2015 (3), 30.
21. Kolář J.: *Drogy v socialistickém Československu. Disertační práce*. Filozofická fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Praha 2018.
22. Carboué Q., Lopez M.: *Encyclopedia* 1, 905 (2021).
23. Díaz J. L.: *Phenom. Cogn. Sci.* 9, 159 (2010).
24. Jurásek M., Drašar P.: *Chem. Listy* 117, 348 (2023).
25. Weil A. T.: *Econ. Bot.* 19, 194 (1965).
26. Pearson L. C.: *The Mushroom Manual*. Naturegraph Publishers. Happy Camp, California 1987.
27. ACD/Labs: ACD/Percepta, Release 2022.1.0 (Build 3577; 7. June 2022).
28. Feeney K. (ed.): *Soma's Third Filter: New Findings Supporting the Identification of Amanita muscaria as the Ancient Sacrament of the Vedas*, v knize: *Fly Agaric: A Compendium of History, Pharmacology, Mythology, and Exploration*, str. 51–62. Fly Agaric Press, Ellensburg, Washington 2020.
29. Šita F.: *Záhada božské sómy*. Kruh, Hradec Králové 1982.
30. Jacquemart A.-L.: *J. Ecol.* 84, 771 (1996).
31. Feeney K.: *J. Psychoact. Drugs* 42, 499 (2010).
32. Schmiedeberg O., Koppe R.: *Das Muscarin*. Vogel F. C. W., Leipzig 1969.
33. Schmiedeberg O., Harnack E.: *Chem. Zentralbl.* 1875, 629.
34. Schmiedeberg O., Harnack E.: *Chem. Zentralbl.* 1876, 554.
35. Eugster C. H.: *Naturwissenschaften* 55, 305 (1968).
36. Takemoto T., Nakajima T., Yokobe T.: *Yakugaku Zasshi* 84, 1232 (1964).
37. Eugster C. H., Takemoto T.: *Helv. Chim. Acta* 50, 126 (1967).
38. Shulgin A., Shulgin A.: *PiHKAL: A Chemical Love Story*. Transform Press, Berkeley 1991.
39. Rumack B. H., Spoerke D. G.: *Handbook of mushroom poisoning: diagnosis and treatment*. CRC Press, Boca Raton 1942.
40. Michelot D., Melendez-Howell L. M.: *Micol. Res.* 107 (2), 131 (2003).
41. Chilton W. S., Ott J.: *Lloydia* 39, 150 (1976).
42. *The Merck Index*. Merck & Co. Whitehouse Station NJ 2001.
43. Theobald W., Büch O., Kunz H. A., Krupp P., Stenger E. G., Heimann H.: *Arzneimittelforschung* 18, 311 (1968).
44. Filer C. N., Lacy J. M., Peng C. T.: *Synth. Commun.* 35, 967 (2005).
45. Siegers C. P.: *Dtsch. Med. Wochenschr.* 98, 1779 (1973).
46. Zheleva A.: *Med. Hypotheses* 69, 361 (2007).
47. Saporová V.: *Průkaz a stanovení vybraných amatoxinů ve vzorcích s biologickou matricí. Diplomová práce*. Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, Olomouc 2015 (a citace tam obsažené).
48. Lima A. D., Costa Fortes R., Carvalho Garbi Novaes M. R., Percário S.: *Nutr. Hosp.* 27, 402 (2012).
49. <https://erowid.org/search.php?exclude=&q=amanita+muscaria&x=0&y=0>, staženo 12. 2. 2023.
50. Jurásek M., Stárka L., Drašar P.: *Chem. Listy* 116, 115 (2022).
51. Bejček J., Spiwok W., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
52. Jurásek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 363 (2021).
53. Jurásek M., Opletal L., Harmatha J., Sláma K., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 595 (2021).
54. Rádl S.: *Chem. Listy* 115, 246 (2021).
55. ChatGPT (ver. 4): <https://chat.openai.com/?model=gpt-4>, dotaz učiněn 14. 3. 2023.

M. Jurásek^a, L. Opletal^b, and P. Drašar^a (^a Department of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, ^b Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové, Czech Republic): **On Forest Entheogen**

The article describes the red toadstool, *Amanita muscaria*, in the mirror of history, natural medicine, content of substances, and toxicity, as well as within the context of shamanic, ritual, and religious practices. Based on scientific reasons, a strong warning against any experimentation with the consumption of the mushroom itself, or preparations prepared from it, is delivered.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: red-and-white toadstool, fly agaric, fly amanita, *Amanita muscaria*, soma, toxicity, hallucinogen, solubility, logP

O SÍLE PAŇDŽÁBSKÉHO ASFALTU

MICHAL JURÁŠEK^a, JOSEF CABALKA^b a PAVEL DRAŠAR^a

^a Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Nové Kounice 37, 364 71 Bochoř, Česká republika
michal.jurasek@gmail.com, drjc@mybox.cz, drasarp@vscht.cz

Došlo 25.5.23, přijato 19.6.23.

Mumio (šiládžít), hmota podobná asfaltu či pryskyřici, která vytéká ze skal během horkých slunných dní většinou v jeskyních v Himálaji, je známá jako medicínální substance východní medicíny. Pozvolna je přijímána západním léčitelským, ale i medicínou. Obsahuje zejména fulvové kyseliny, humíny, humové kyseliny a radu dalších látek. Článek shrnuje zejména recentní informace o této substanci.

Klíčová slova: shilajit, mumijo, rasájana, biologická aktivita, vlastnosti, fulvokyseliny, fulvové kyseliny

Shilajit (čti šiládžít; psáno též shilajeet, šilājatu) v sanskrtu शिलाजीत neboli mumijo (mumio, moomiyo, mumia), latinsky *Asphaltum punjabianum*, je většinou černohnědá hmota podobná asfaltu či pryskyřici, která vytéká ze skal během horkých slunných dní, většinou v jeskyních v Himálaji, v nadmořských výškách mezi 1000–5000 m, od Arunáčalpraděše na východě po Kašmír na západě. Nachází se také v jiných zemích, např. v Afghánistánu, Antarktidě, Bhútánu, Číně, Nepálu, Pakistánu, Severovýchodní Africe, Tibetu a dnešní Ruské federaci, nejvíce ceněný je dnes Kirgizský shilajit. Ve východní medicíně se má za to, že zpomaluje stárnutí a podporuje omlazení organismu, čímž naplňuje požadavek ajurvedické medicíny na zařazení mezi rasájany (रसायन, raný ajurvedský termín související s prodlužováním délky života a posilováním těla). Podobně jako u maralího kořenu¹ na jeho léčivé vlastnosti poukázala asijským lovcům zvěř, která shilajit vyhledávala a olizovala. Původ mumia není zcela jasný, ale podle dnešního názoru to jsou organické pozůstatky fauny a flóry, které se vzájemně v průběhu

tisíciletého přirozeného procesu promísily a spojily s anorganickými skalními minerály².

Shilajit, látka opředená mnoha pověrami, uváděná např. i Avicennou, Aristotelem a dalšími (mj. na léčení kašle, anginy, migrén, epilepsie, zlomenin, dislokace, poliomyelitidy, ochrnutí obličeje, otrav, tuberkulózy, vředů a zánětlivých onemocnění)³, je stále velmi populární a ve formě doplňku stravy jej prodávají u nás i renomované lékárny. Nicméně, jako cokoliv, co je na prodej a čeho je málo, je shilajit zhusta porušován a dokonce je za něj vydáváno téměř kde co; na místě je zde pečlivá analýza a kontrola kvality⁴. Je nutno podotknout, že jeho složení je proměnlivé, záleží na místě sběru, a tudíž má i proměnlivé biologické vlastnosti, a to od nuly až po „zázrak“. Balastní „šedé“ literatury a informací kolem této látky je velmi mnoho a nestojí za citování. Nicméně Chemical Abstracts Service uvádí o tomto materiálu 298 časopiseckých sdělení, 187 patentů, 33 přehledů a 6 záznamů klinických studií, poněkud více z našeho století.

Pokud se podíváme na ony zmíněné klinické studie, je zaznamenáno, že studie z roku 2020 ukázala, že orální konzumace mumia po operaci zlomeniny holenní kosti by mohla být slibnou možností pro zkrácení doby hojení⁵. Výsledky studie z roku 2019 prokázaly, že 8 týdnů suplementace mumiem podpořilo zachování maximální svalové síly po únavném cvičení a vyvolalo příznivé adaptace svalové a pojivové tkáně⁶. Práce z téhož roku poskytla důkazy, které prokazují, že perorální suplementace shilajitem u dospělých zdravých žen indukovala geny relevantní pro migraci endoteliálních buněk a růst krevních cév a zlepšila mikroperfuzi kůže⁷. Léčba shilajitem, podle studie z roku 2016, významně zvýšila hladiny celkového testosteronu, volného testosteronu a dehydroepiandrosteronu (DHEA) ve srovnání s placebem. Úrovně gonadotropních hormonů (LH a FSH) zůstaly nezměně-

Obr. 1. Shilajit (*Asphaltum punjabianum*)

ny⁸. Studie z roku 2016 poskytla důkaz, že perorální suplementace shilajitem u obézních lidských subjektů s nadváhou/třídy I podporovala adaptaci kosterního svalstva prostřednictvím upregulace genů souvisejících s extracelulární matricí, které řídí svalové mechanotransdukční vlastnosti, elasticitu, opravy a regeneraci⁹. Studie z roku 2009 prokázala spermatogenní účinek shilajitu u oligospermických pacientů tak, jak je popisováno v ajurvédské medicíně¹⁰. Dále se dá shrnout, že shilajit má antiulcerogenní, antidiabetické, anxiolytické, imunomodulační, antialergické, analgetické, neuroprotektivní, antimykotické, protizánětlivé a antioxidační vlastnosti. Dále je uváděna i jeho aktivita podporující kognitivní a paměťové funkce¹¹.

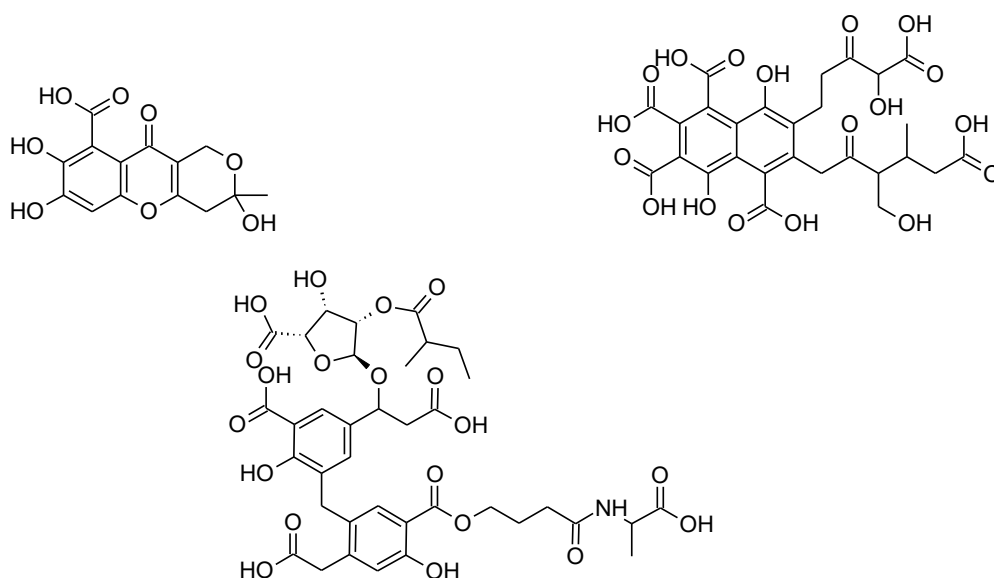
Současná literatura uvádí použití shilajitu jako nutraceutika v prevenci Alzheimerovy choroby¹² a kognitivních poruch¹³ mj. souvisejících se stářím¹⁴. Shilajit byl a je používán samotný, ale i jako komponenta, v orientální medicíně pro obecné fyzické posilování, proti stárnutí, pro stabilizaci cukru v krvi, pro omlazení močových cest, pro zvýšenou účinnost fungování mozku, pro omlazení ledvin, pro posílení imunitního systému, na artritidu, hypertenzi a také pro léčbu mnoha dalších chorob¹⁵. Shilajit byl studován jako chemoterapeutikum na rakovinu močového měchýře¹⁶. Byl použit ve formě antimikrobiálního hydrogelu k hojení poranění¹⁷. Byl ale zaznamenán i případ fyzickou námahou indukované anafylaxe po požití shilajitu¹⁸ a případ pseudohyperaldosteronismu po jeho požití během těhotenství¹⁹.

Bakalářská práce²⁰ uvádí řadu dalších biologických aktivit, včetně ochrany před ionizujícím zářením. Práce je však natolik zmatečná, že se některé uvedené údaje nedají ověřit ani podle citací.

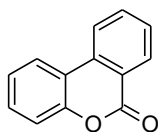
Český klub skeptiků Sisyfos uvádí, že údaje o léčivých vlastnostech shilajitu jsou nevěrohodné², neboť nejsou podepřeny klinickými studiemi; zřejmě jim lze doporučit, aby se zajímali o soudobou lékařskou literaturu. Výše uvedené výsledky klinických studií potvrzují oprávněnost zařazení shilajitu mezi rasájaný, mj. jak pro posílení oligospermických pacientů, tak pro zvýšení koncentrace testosteronu a hormonu mládí²¹.

Jakkoli je shilajit směs řady látek, má v Chemical Abstracts Service svoje registrační číslo 12040-71-0. Na trhu s chemikáliemi jej lze zakoupit přibližně za 1 USD/g, v lékárně poněkud dražší. Mumio, očištěné od příměsí a extrahované, má podobu tmavě hnědě zabarvené homogenní hmoty, elastické konsistence, s lesklým povrchem, s osobitým aromatickým pachem a nahořklou chutí. Specifická hmotnost je 2–2,5 kg dm⁻³, teplota tání ca 80 °C, pH 0,5% vodného roztoku 6,7–7,0 se stáním zvyšuje na 7,5. Při uskladnění mumio postupně tvrdne v důsledku ztráty vlhkosti. Je snadno rozpustné ve vodě (1/8), málo rozpustné v 95% ethanolu (1/4500) a etheru (1/7000) a téměř nerozpustné v chloroformu²².

Podívejme se blíže na složení. Primární složkou shilajitu jsou biologicky aktivní fulvové kyseliny (používáme progresivní názvosloví²³ místo výrazu fulvokyseliny) o molekulové hmotě 700–2000 Da tvořící min. 60 % shilajitu a oxidované dibenzo- α -pyrony, tvořící ca 0,3 % (cit.²⁴). Mezi další složky můžeme uvést huminy, humové kyseliny, fytofenoly, aromatické karboxylové kyseliny (benzoová, hippurová, ellagová), organické kyseliny, aminokyseliny, peptidy (mono-, di-, tripeptidy), proteiny mezi nimi albuminy, lipidy, fosfolipidy, mastné kyseliny, triterpeny, minerální látky a vodu²⁵. Před potravinářským a medicínálním použitím je nutno přírodní materiál přeči-



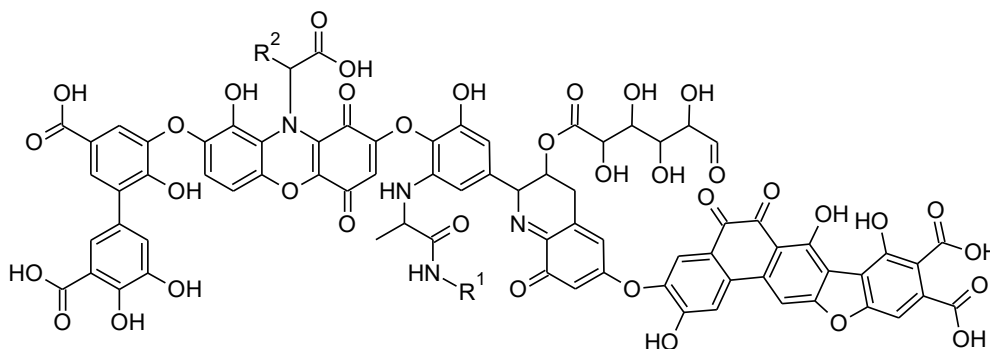
Obr. 2. Různé představy o struktuře fulvových kyselin dle cit.^{33–35}

Obr. 3. Dibenzo- α -pyron (6H-dibenzo[b,d]pyran-6-on)

tit, na což je popsána řada postupů²⁶. International Humic Substance Society (IHSS) na svých stránkách²⁷ přináší komplexní analytická data a vzorky pro huminové látky, které by bylo možno k charakterizaci a identifikaci využít.

Fulvové kyseliny (od lat. *fulvus*, žlutý, angl. fulvic acids (substances) CAS RN 308066-67-3) jsou žlutohnědou frakcí huminových látek (složitých vysokomolekulárních polycyklických sloučenin jako nepřiliš uspořádaná síť aromatických organických polymerů s mnoha karboxylovými skupinami (COOH). Tyto kyseliny snadno disociují a vážou kovové ionty). Mají relativní molekulovou hmotnost v rozmezí několika stovek až desítek tisíc Daltonů (cit.²⁸). Pocházejí zřejmě z ligninu a jsou rozpustné jak v kyselém, tak v bazickém prostředí. Humové kyseliny (někdy řazené mezi allomelaniny²⁹, angl. humic acids CAS RN 1415-93-6) mohou být charakterizovány jako nepřiliš uspořádaná síť aromatických polymerů s různou kyselostí a reaktivitou³⁰, jsou to černohnědé huminové látky o molekulové hmotě pět tisíc až sto tisíc Daltonů, rozpustné v alkalických roztocích, avšak nerozpustné v kyselinách, i ty jsou schopny vázat kovové ionty. Huminy jsou všechny ostatní nerozpustné hnědočerné huminové látky přítomné v půdní organické hmotě, které nemůžeme převést do roztoku žádnou acidobazickou úpravou^{23,31,32}.

Recentní přehled³⁶ přináší souhrn ukazující, že fulvové kyseliny mohou působit jako imunitní modulátor, ovlivňovat redoxní stav a potenciálně ovlivnit zdraví střev. Je popsáno, že fulvové kyseliny snižují prozánětlivé markery, ale také aktivují imunitní systém k zabíjení bakterií. Ukázalo se, že snižují oxidační stres a dokonce vyvolávají apoptózu v liniích rakoviny jater. Dále pak fulvové kyseliny také ovlivňují mikrobiom a možná zlepšují funkci střev.

Obr. 4. Představa struktury huminové kyseliny podle cit.³⁷, jiné představy viz cit.³¹

va. Zdá se, že fulvové kyseliny mají, pokud jde o tyto fyziologické stavy, efekt Yin-Yang. Při vysoké dávce a špatném podávání se však může projevit i jejich toxicita.

Opět, jako u jiných prostředků tradiční medicíny Orientu^{38,39}, musíme být opatrní a neodmítnout výsledky lékařského výzkumu mající za sebou tisíciletou tradici jenom proto, že nezapadají do „škatulek“, které jsme si při modelování lékařských a přírodních jevů vytvořili my, v našem tradičním pojetí. Ano, opatrnosti je třeba například u orientální alchymie, i když i ta poskytla naší současné chemii leckterý základ. Na straně druhé, zkušenosti s přírodními drogami a jejich medicínám využitím jsou, třeba i pro takové „západní“ instituce jako National Institutes of Health, Bethesda, MD, jehož odborníci sbírají rady kořenářek a šamanů z celé zeměkoule, velmi užitečné ve výzkumu nových léků. A k malé osvětě by měla posloužit i série našich článků, jako např.^{40,41}.

LITERATURA

1. Jurášek M., Opletal L., Harmatha J., Sláma K., Drašar P.: Chem. Listy 115, 595 (2021).
2. Heřt J.: *Stručný výkladový slovník českých skeptiků*. Český klub skeptiků Sisyfos, <https://www.sisyfos.cz/clanek/870-mumio>, staženo 22. 6. 2022.
3. <https://www.blackresin.com/shilajit-resins-middle-eastern-history/>, staženo 22. 6. 2022.
4. Binitha R. R. V., Mahadevan S., Rosamma M. P., Rajesh K. S.: J. Pharm. Sci. Innovation 8, 189 (2019).
5. Sadeghi S. M. H., Hosseini Khameneh S. M., Khodadoost M., Hosseini Kasnavieh S. M., Kamalinejad M., Gachkar L., Rampp T., Pasalar M.: J. Altern. Complementary Med. 26, 521 (2020).
6. Keller J. L., Housh T. J., Hill E. C., Smith C. M., Schmidt R. J., Johnson G. O.: J. Int. Soc. Sports Nutr. 16, 1 (2019).
7. Das A., El Masry S. M., Gnyawali S. C., Ghatak S., Singh K., Stewart R., Lewis M., Saha A., Gordillo G., Khanna S.: J. Am. Coll. Nutr. 38, 526 (2019).
8. Pandit S., Biswas S., Jana U., De R. K., Mukhopadhyay S. C., Biswas T. K.: Andrologia 48, 570 (2016).

9. Das A., Datta S., Rhea B., Sinha M., Veeraragavan M., Gordillo G., Roy S.: *J. Med. Food* 19, 701 (2016).
10. Biswas T. K., Pandit S., Mondal S., Biswas S. K., Jana U., Ghosh T., Tripathi P. C., Debnath P. K., Auddy R. G., Auddy B.: *Andrologia* 42, 48 (2009).
11. Carrasco-Gallardo C., Guzmán L., Maccioni R. B.: *Int. J. Alzheimer's Dis.* 2012, 674142.
12. Calfio C., Gonzalez A., Singh S., Rojo L. E., Maccioni R. B.: *J. Alzheimer's Dis.* 77, 33 (2020).
13. Maccioni R. B., Calfio C., Gonzalez A., Luttges V.: *Biomolecules* 12, 249 (2022).
14. Sharma J.: *World J. Pharm. Pharm. Sci.* 9, 2054 (2020).
15. Malik N., Masand S., Keshav J., Mohapatra S.: *World J. Pharm. Res.* 9, 455 (2020).
16. Kloskowski T., Szeliski K., Krzeszowiak K., Fekner Z., Kazimierski L., Jundzill A., Drewa T., Pokrywczynska M.: *Sci. Rep.* 11, 22614 (2021).
17. Zandrea O., Ngwabebhoh F. A., Patwa R., Nguyen H. T., Motiei M., Saha N., Saha T., Saha P.: *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* 607, 120952 (2021).
18. Losa F., Deidda M., Firinu D., Di Martino M. L., Barca M. P., Del Giacco S.: *World J. Clin. Cases* 7, 623 (2019).
19. Stavropoulos K., Sotiriadis A., Patoulis D., Imprialos K., Dampali R., Athyros V., Dinas K.: *Gynecol. Endocrinol.* 34, 1019 (2018).
20. Šmídová H.: *Průzkum aplikací huminových kyselin v medicíně a kosmetice. Bakalářská práce.* Vysoké učení technické v Brně, Brno 2010; https://www.vut.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=27101, staženo 3. 8. 2022.
21. Jurášek M., Stárka L., Drašar P.: *Chem. Listy* 116, 113 (2022).
22. <https://cs.wikipedia.org/wiki/Mumio>, staženo 22. 6. 2022.
23. Drašar P., Kozler J., Paleta O.: *Chem. Listy* 117, 581 (2023).
24. Ghosal S.: US6440436 (2002).
25. Orlov Yu. A., Orlov S. Yu., Sakalova K. L.: RU2164411 (2001).
26. Bugaev F., Kompantsev D., Pogrebnyak L.: *J. Res. Pharm.* 23, 697 (2019).
27. <https://humic-substances.org/>, staženo 26. 6. 2022.
28. Pivokonský M.: *Koagulate při úpravě vody.* Academia, Praha 2020.
29. The Merck Index, Monograph Number 4771, Merck, Whitehouse Station 2001.
30. Encyclopædia Britannica, Inc.; <https://www.britannica.com/>, staženo 26. 6. 2022.
31. Skokanová M., Dercová K.: *Chem. Listy* 102, 262 (2008).
32. Fremrová L.: ČSN ISO 6107-5 (75 0175), část 5 (2010).
33. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4514278.html>, staženo 22. 6. 2022.
34. Stevenson F. J.: *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions.* Wiley, New York 1994.
35. Veselá L., Kubal M., Kozler J., Innemanová P.: *Chem. Listy* 99, 711 (2005).
36. Winkler J., Ghosh S.: *J. Diabetes Res.* 2018, 5391014 (2018).
37. Stevenson F. J.: *Humus Chemistry.* Wiley, New York 1982.
38. Jurášek M., Opletal L., Kmoníčková E., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 363 (2021).
39. Bejček J., Spiwok W., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
40. Jurášek M., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 468 (2021).
41. Jurášek M., Rybka A., Opletal L., Drašar P.: *Chem. Listy* 116, 668 (2022).

M. Jurášek^a, J. Cabalka^b, and P. Drašar^a
 (^aDepartment of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, ^bNové Kounice, Bochoř, Czech Republic): **On the Strength of Punjabi Asphalt**

Mumio (shilajit), a substance similar to asphalt or resin that oozes from rocks during hot sunny days, mostly in caves in the Himalayas, is known as a medicinal substance in Eastern medicine. It is slowly being accepted by Western healing as well as medicine. It mainly contains fulvic acids, humic acids and a number of other substances. The article mainly summarizes recent information about this substance.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: shilajit, mumijo, rasayana, biological activity, properties, fulvic acids

HUMINOVÉ LÁTKY, CHARAKTERIZACE A NÁZVOSLOVNÉ DOPORUČENÍ

PAVEL DRAŠAR^a, JOSEF KOZLER^c a OLDŘICH PALETA^b

^a Ústav chemie přírodních látek, ^b Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^c MikroChem LKT spol. s r.o., Přeseke 52, 379 01 Třeboň, Česká republika
drasarp@vscht.cz, kozler@mikrochem.cz, paletao@vscht.cz

Klíčová slova: huminové látky, humin, huminové a humové kyseliny, fulvinové a fulvové kyseliny, fulvokyseliny

Huminové látky (dále jen HS; Humic Substances)¹ jsou látky, které jsou známy a využívány pro svou vysokou chemickou a biochemickou aktivitu, neboť jsou schopny svou přítomností výrazně ovlivňovat mnohé chemické a biochemické procesy. Struktura, chemické a fyzikální vlastnosti a biologická aktivita HS jsou stále předmětem intenzivního výzkumu. Tyto parametry jsou závislé na původu HS a způsobu jejich izolace z výchozích (přírodních) surovin. Pro HS existuje určité sjednocující hledisko (jedná se o makromolekulární sloučeniny, řada shodných funkčních skupin, rozpustnost v alkalickém prostředí a omezená rozpustnost v kyselém prostředí, schopnost vázání vícemocných kationtů atd.), ale existuje též řada kvalitativních parametrů (strukturních, fyzikálních, chemických, biologických atd.), v nichž se HS liší, jako důvody jsou buď původ z různých přírodních zdrojů nebo užití různých postupů jejich přípravy.

Obecně je možno říci, že dosavadní výzkum využití HS je založen převážně na empirické bázi. Důvodem jsou chybějící komplexní znalosti o strukturních parametrech HS. Tím je poměrně značně omezeno vyvozování exaktních závěrů a prognóz o principech jejich působení v biochemických a chemických procesech.

Významným zdrojem HS jsou kaustobility – rašelina, lignit a zejména oxidovaná mladá hnědá uhlí, tzv. oxyhumolity. V České republice jsou jedny z nejkvalitnějších oxyhumolitů na světě. Molekulová hmotnost HS se pohybuje v rozmezí 2 000 až 200 000 g mol⁻¹. Zpravidla bývají v přírodních surovinách hlavní složkou HS humové kyseliny (dříve huminové, dále jen HA), vedlejší složkou fulvové kyseliny (dříve fulvokyseliny, dále jen FA). FA jsou ve vodě rozpustné, HA jsou ve vodě jen omezeně rozpustné a jejich rozpustnost stoupá se zvyšujícím se pH.

HS jsou tvořeny řadou stavebních jednotek, přičemž vedle větších fragmentů ligninu, polysacharidů, jednoduchých cukrů a proteinů mají ve svých molekulách především aromatické polykarboxylové kyseliny, struktury se skupinami –OH, chinony, heterocykly obsahující O a N a různé aminokyseliny. Tyto části molekul jsou propojeny různými můstky (–O–, –NH–, –N=, –CH₂–, –C(=O)–, –S– a také delšími uhlovodíkovými řetězci), jejichž množství je ve velmi rozdílném poměru.

Chemická struktura přírodních HA je velmi složitá. Strukturní vzorce, resp. části strukturních vzorců, jsou konstruovány na základě kvantitativního stanovení základních stavebních jednotek a funkčních skupin. Wilson² publikoval 8 komplexních fragmentů, které předpokládá ze studií huminových látek z jihovýchodní Georgie pomocí NMR. Pro HS pocházející z přírodních zdrojů v ČR nebyla dosud taková studie prováděna, lze však předpokládat vysoký stupeň podobnosti.

Obsah karboxylových a fenolových hydroxyskupin, tzv. aktivního vodíku, se u HS pohybuje v rozmezí 3 až 10 meq g⁻¹ v závislosti na původu uhlíkaté suroviny a způsobu jejího zpracování. Přítomnost chinoidních skupin vysvětluje schopnost HS vázat aminokyseliny, např. vodíkovou vazbou. V chemických a fyzikálních procesech se uplatňuje schopnost HS vázat velmi ochotně ionty a plyny s volnými elektronovými páry. HS se chovají díky svým karboxylovým a kyselým fenolickým funkčním skupinám jako slabě kyselé katexy s vysokou výměnnou kapacitou. Pevnost vazby anorganických kationtů na HS se výrazně liší a je ovlivněna mocností a velikostí hydratačních obalů kationtů.

Částice obsahující HS mají velký vnitřní povrch, jehož dutiny jsou vzájemně pospojovány kanálky, ve kterých se zachycují ionty i molekuly. Ty jsou zde vázány nekovalentními interakcemi. Sorpční vlastnosti umožňují HS vytvářet velmi stabilní agregáty s jíly, např. bentonity a zeolity. Humáty alkalických kovů jsou dobře rozpustné ve vodě.

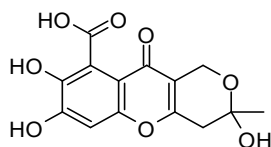
Vzhledem k jejich komplexní struktuře jsou data o jejich biologických účincích omezená, přesto ale ukazují na řadu zajímavých efektů. V roce 2000 schválil Center for Food Safety and Applied Nutrition (US Food and Drug Administration – FDA) humifulvát (produkt získávaný alkalickou extrakcí rašeliny těžené v oblasti Balatonu) jako bezpečné dietetikum (Dietary Ingredient) a povolil prodej těchto preparátů ve Spojených státech³. Podobné látky jsou k dispozici jako dietetika také ve většině států Evropy. Jedná se obvykle o humát (humifulvát) draselný nebo jeho chelát s řadou dalších stopových prvků. Evropská unie povolila přidávání humové kyseliny a její sodné soli do krmiv pro všechny druhy zvířat určených

k produkci potravin⁴, případně jako hnojiva a půdní přípravky^{5,6}. HS se uplatňují i v medicíně a kosmetice⁷.

Humínové látky (HS) nejsou prozatím, stran nomenklatury, kodifikovány na základě názvoslovných doporučení IUPAC. Pokud se obrátíme na angličtinu, která je do značné míry kodifikována zápisem názvů do registru CAS, uvidíme zde termíny: humic substances (HS), humin, humic acids (HA), fulvic acids (FA), fulvinic acid, fulvonic acid, fulvic acid a fulvic substances. Ale ani tam to není jednoduché a není to však jednoduché ani v češtině⁸.

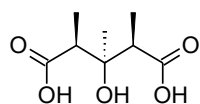
Podívejme se nejprve na anglické termíny. International Humic Substance Society (IHSS) používá termíny Humic a Fulvic Acids⁹. Pokud se týče strukturních představ, jsou různorodé¹⁰ a u složitějších látek spíše navozují představu, z jakých komponent se dané látky mohou skládat.

U dalších látek je to složitější. Fulvic acid je v CA citována více než 25 000×, ale její CAS RN 479-66-3 jen 1200× v pracích, které mají vztah k rašelině a rozkladným produktům rostlin. Je spojována s látkou se systematickým názvem 4,10-dihydro-3,7,8-trihydroxy-3-methyl-10-oxo-1H,3H-pyrano[4,3-b]benzo-pyran-9-karboxylová kyselina. PubChem spojuje termín fulvic acid s výše popsanou látkou a ukazuje na 1820 prací a 793 patentů.



4,10-dihydro-3,7,8-trihydroxy-3-methyl-10-oxo-1H,3H-pyrano[4,3-b]benzo-pyran-9-karboxylová kyselina

Podívejme se i na názvoslovně příbuzné termíny. Fulvinic acid (necic acid, 2,4-dideoxy-2,4-dimethyl-3-C-methylxylarová kyselina) je registrována pod CAS RN 41478-07-3.



2,4-dideoxy-2,4-dimethyl-3-C-methylxylarová kyselina

Tato látka je v CA uváděna v 17 pracích, z nichž značná část má souvislost s půdou a huminovými látkami. Termín fulvinic acid v PubChem vede na strukturu a název fulvic acid.

Fulvonic acid (CAS RN 11029-39-3, bez struktury a bližší definice) se vyskytuje v CA v 9 pracích, z nichž některé mají vztah k rašelině a rozkladným produktům rostlin. V PubChem termín fulvonic acid zobrazují 3 maďarské patenty související s rozkladem rostlinného materiálu.

Termín fulvic acids je registrován jako CAS RN 308066-67-3, bez bližší definice a není k němu přiřazen

žádný dokument. Fulvic acids vede v PubChem na 758 prací a 45 patentů.

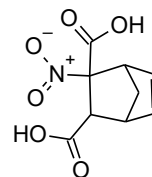
Fulvic substances též jako CAS RN 308066-67-3, Oxi-fulvic acid, Soil organic matter, a není k němu přiřazen žádný dokument. V PubChem vede tento název na 20 citací, souvisejících s rozkladem rostlinného materiálu.

V literatuře se vyskytující termín fulvo acid není v CA registrován, protože je zkracován na FA a týká se huminových látek; usuzujeme, že je ekvivalentem českého fulvokyseliny.

CAS RN 1561845-42-8 má přidělen termín fulvol acetate s jednou citací, přičemž fulvol registrován není a ten, který je součástí fulvol acetate, je norseskviterpen.

Termín humic acids má CAS RN 1415-93-6 (ulmic acids, soil organic matter, humic acid, humic substances) a není k němu přiřazen žádný dokument. Termín je popisován jako: *The brown polymeric product from the decomposition of organic matter, particularly dead plants. This combination of polymers may contain aromatic and heterocyclic structures, carboxy groups, and nitrogen.* Termín je však obsažen v 54 registracích CAS jako součást směsí a vede na 4062 citací. Humic acid vede v PubChem na CAS RN 308067-45-0, které v CAS vede na termín humic acids, nitro-, nitrohumic bez přiřazených citací.

V PubChem je reprezentován jako 2-nitrobicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dikarboxylová kyselina s 5630 citacemi a 2426 patenty.



2-nitrobicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dikarboxylová kyselina

Pod termínem humin(s) najdeme v CA 7363 článků, termín ale nemá CAS RN a není definován.

V češtině nalezneme pro huminové látky řadu, poťazmo, degenerovaných a z letmého překladu z angličtiny vzniklých názvů. Nalezneme názvy jako fulvokyseliny, kyselina fulvická, fulvicová, fulvinová, fulvonová, fulvová aj., podobně nalezneme názvy jako huminová, humová kyselina a to v dílech lidových i akademických.

Terminologie půdních látek je samozřejmě starého data. Zabýval se jí již Amerling v roce 1854 (cit.¹¹, obr. 1) a pokoušel se dát české terminologii určitý řád a souznění s názvoslovím německým.

Přejdeme tedy k názvoslovnému doporučení, které vychází z anglického Humic a Fulvic Acid a z rozdělení huminových látek podle barvy a rozpustnosti¹². Alkalický extrakt půdního vzorku budiž tmavohnědá „směs huminových látek“ a nerozpustný podíl pak černý „humin“ (lat. *humus* – půda). V kyselém prostředí nerozpustná část směsí huminových látek jsou pak černohnědé „humové kyseliny“. Podíl v alkoholu rozpustné minoritní složky

Jestli že jsme pochopili, jak prst povstává, tedy snadno nahlédneme, že jest to směs rozlično-stupenních rozloučenin hmot živočných; prst den co den se mění, vodík uchází a i uhlík v způsobě vody a uhelce.

Dotčené rozličné stupně složí jilmovina (Ulmín), prstovina (Humín), jilmovinec (Ulmínsäure), prstovinec (Humínsäure), zeměkys (Geinsäure), zřídlec (Queßsäure), ssedlinec (Queßsäure), a v tomtěz pořádku jedna hmota z druhé se tvoří; 2 poslední kysy roztekají ve vodě a jsou dílem příčinou, že voda bahnatá a rybní barvu žlutou neb hnědou má; 3 kysy předcházející roztekají toliko tenkrát, když k vodě žiravinu se přidá; ulmín a humín ani vodou ani žiravinami rozpustiti se nedají.

Protož tím slovem prst myslíme si směs hnědých dílem rozpustných, dílem nerozpustných, dílem kyselých, dílem obojetných tlejících hmot, jenž ve vzduchu, světle a vlhku neustále dále se rozlučují a při tom uhlec č. uhličitec a vodu vydávají.

Obr. 1. Amerlingův text o půdních látkách

humových kyselin je směs „hymatomelanových kyselin“, které jsou hnědé se žlutým nádechem. V kyselém prostředí rozpustná část směsi huminových látek jsou pak „fulvové kyseliny“, jež jsou žluté až hnědožluté (lat. fulvus – hnědožlutý). Doporučujeme termín fulvové kyseliny i tam, kde je dnes používán termín fulvokyseliny. Doporučením termínu humové a fulvové se snažíme udržet souvislost s anglickými termíny humic a fulvic. Zdůrazňujeme použí-

tím množného čísla i fakt, že se jedná o směsi látek, jejichž chemické složení může být proměnlivé, a to i přesto, že mají registrační čísla CAS.

Toto názvoslovné doporučení vychází z per členů názvoslovné komise pro organickou chemii ČSCH (OP a PD) a celoživotního specialisty na dotčenou oblast (JK) a předpokládá, alespoň pro češtinu, utřídění názvoslovných termínů.

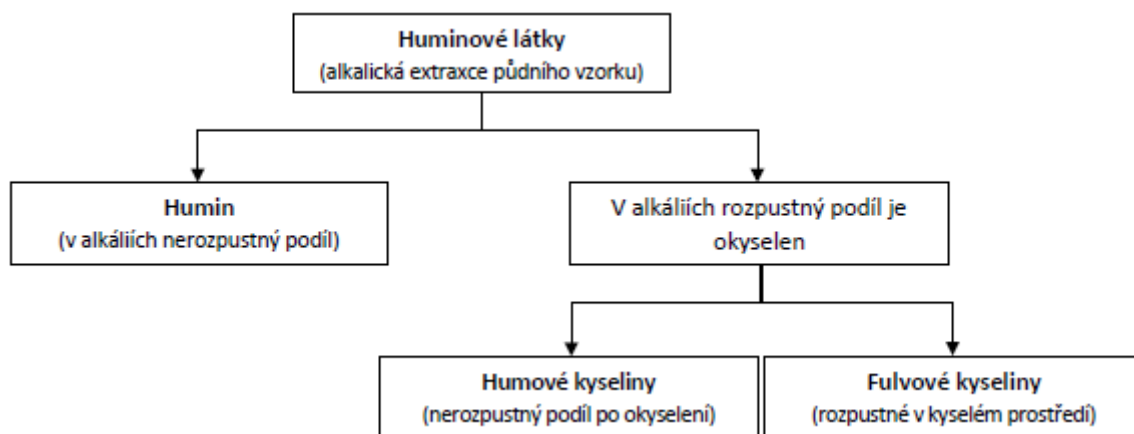


Schéma 1.

LITERATURA

1. Hessen D. O., Tranvik L. J. (ed.): *Aquatic Humic Substances, Ecology and Biogeochemistry*, Springer-Verlag, Berlin 1998.
2. Wilson M. A., Vassallo A. M., Perdue E. M., Reuter J. H.: *Anal. Chem.* 59, 551 (1987).
3. 75-Day Premarket Notifications for New Dietary Ingredients (PDF); <https://www.fda.gov/media/160660/download>, staženo 22. 5. 2023.
4. Nařízení komise (EU) č. 37/2010 ze dne 22. prosince 2009.
5. Rozhodnutí komise (EU) 2016/286 ze dne 1. října 2014.
6. Nařízení komise v přenesené pravomoci (EU) 2022/973 ze dne 14. března 2022.
7. Šmídová H.: *Průzkum aplikací huminových kyselin v medicíně a kosmetice. Bakalářská práce*. Vysoké učení technické v Brně, Brno 2010.
8. Tyl P., Řimnáč M., Špánek R., Štuller J., Linková Z., Kozler J., Antořová B., Váňa V.: *Tvorba ontologie huminových látek*, Technical report No. 1098, Institute of Computer Science, Academy of Sciences of the Czech Republic, Praha 2010; <https://invenio.nusl.cz/record/42373/files/content.csg.pdf>, staženo 22. 5. 2023.
9. <https://humic-substances.org/>, staženo 4. 8. 2022.
10. Jurášek M., Cabalka J., Drašar P.: *Chem. Listy* 117, 547 (2023).
11. Amerling K.: *Lučební základové hospodářství a řemeslnictví. Ku prospěchu čekatelům promyslných škol. Lučba organická*. B. Rohlíček, Praha 1854.
12. Stevenson F.J.: *Humus Chemistry*. John Wiley and Sons, New York 1982.

BETULONOVÁ A PLATANOVÁ KYSELINA JAKO ZÁKLAD PRO SYNTÉZU NOVÝCH TERAPEUTICKY ÚČINNÝCH LÁTEK

LUCIE ČERNÁ^a, ZDENĚK WIMMER^b, ANGELINA MASSYAGUTOVA^a a PETRA LOVECKÁ^a

^a Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika,

^b Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika

Lucie4.Cerna@vscht.cz

Došlo 17.4.23, přepracováno 26.9.23, přijato 3.10.23.

Přírodní látky produkované rostlinami představují významný zdroj nových léčivých substancí. Tento článek je zaměřen na popis antimikrobiální, antivirální a cytotoxické aktivity syntetizovaných derivátů betulonové a platanové kyseliny, zejména jejich oximových derivátů. Cílem článku je poskytnout přehled zmíněných aktivit těchto derivátů a jejich možného využití v oblasti léčby infekčních či nádorových onemocnění.

Klíčová slova: betulonová kyselina, platanová kyselina, oximové deriváty, antivirová aktivita, antibakteriální aktivita, protinádorová aktivita

Obsah

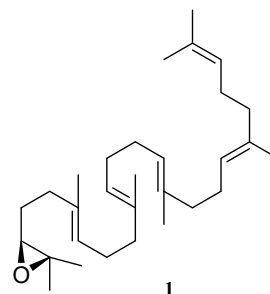
1. Úvod
2. Syntéza derivátů
3. Biologické aktivity
4. Závěr

1. Úvod

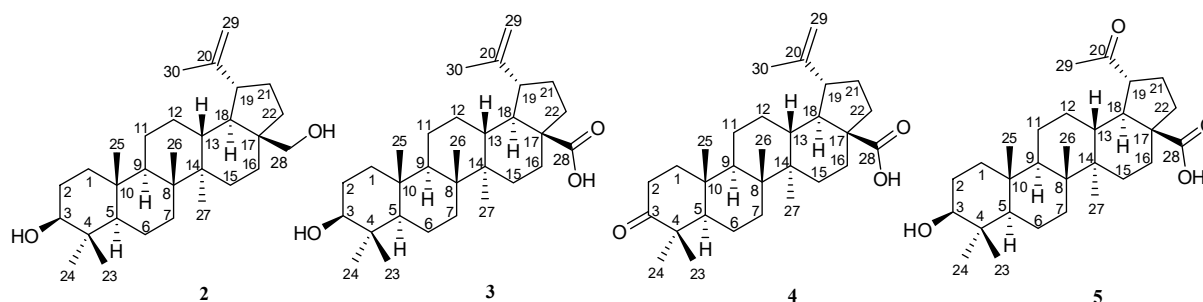
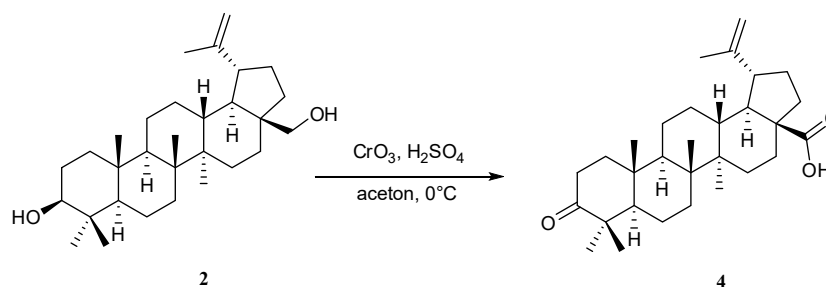
Rostliny představují rozmanitý a bohatý zdroj biologicky aktivních látek¹. Léčivé rostliny byly používány již v historii v tradiční humánní medicíně². Hlavní výhodou je, že rostliny jsou snadno dostupnými zdroji³. Příkladem může být skupina rostlinných triterpenoidů, syntetizovaná rostlinami v podobě sekundárních metabolitů^{3,4}. Sekundární metabolity mají různé funkce a disponují velkou strukturální rozmanitostí^{2,3}. Patří do skupiny isoprenoidů, které jsou tvořeny základní jednotkou isoprenu o pěti uhlíkových atomech a dělí se podle počtu zúčastněných jednotek ve struktuře⁴. Triterpenoidy (obsahují ve struktuře heteroatom, většinou kyslík) jsou klasifikovány na tetracyklické a pentacyklické^{2,3}. Rozdělují se dále na základě jejich struktury na deriváty lupanu, oleananu nebo ursanu⁵. Za důležitou třídu přírodních produktů jsou považovány pentacyklické triterpenoidy⁶. Pentacyklické triterpeny se skládají ze šesti isoprenových jednotek, tedy ze skeletu o třiceti uhlíkových atomech. Vznikají biosyntetickou cyklizací 2,3-oxidoskvalenu (1; obr. 1) katalyzovanou oxidoskvalenylklasami nebo triterpensyntasami².

Bylo izolováno více než 20 000 triterpenů a v rostlinách se mohou vyskytovat v jejich částech (kůra,

korek, list, ovocná slupka) ve formě volných kyselin nebo aglykonů^{2,3}. Triterpenoidní kyseliny se v přírodních zdrojích mohou vyskytovat jako polárnější konjugáty s mono- a oligosacharidy nebo estery cukrů¹. Do kategorie pentacyklických triterpenoidů lupanové struktury patří lupeol, betulin (2), betulinová (3), betulonová (4) a platanová kyselina (5) (obr. 2)³. Kůra břízy bělokore, čeleď *Betula-ceae* (*Betula alba* L., *Betula pendula*) je nejbohatším zdrojem betulinu [(3β)-lup-20(29)-en-3,28-diol]³. Betulin tvoří až 30 % březové kůry⁷. Dále ho lze také izolovat z hřebíčkovce (*Syzygium* z čeledi *Myrtaceae*)³. Betulinová kyselina [(3β)-3-hydroxy-lup-20(29)-en-28-ová kyselina] může být také izolovaná i z jiných rostlin čeledi *Betula-ceae*, avšak v menším množství, proto se získává chemickou nebo enzymatickou oxidací betulinu². Dalším zdrojem mohou být rostliny z čeledi *Rhamnaceae*, *Myrtaceae*, *Ebenaceae* nebo *Paeoniaceae*⁸. Oproti betulinové kyselině



Obr. 1. 2,3-oxidoskvalen (1)

Obr. 2. **Triterpenoidní kyseliny:** betulin (2), betulinová kyselina (3), betulonová kyselina (4) a platanová kyselina (5)Schéma 1. **Jonesova oxidace betulinu (2) na betulonovou kyselinu (4)**

se betulonová [3-oxo-lup-20(29)-en-28-ová kyselina] kyselina liší v poloze C-3, kde se vyznačuje ketoskupinou místo β -konfigurovaného hydroxyly. Betulonová kyselina se získává také z březové kůry extrakcí organickými rozpouštědly (ethanol, aceton nebo chloroform), avšak její obsah je nízký, takže pro její získání se využívá semisyntetická oxidace betulinu – Jonesova oxidace (schéma 1)³.

Platanová kyselina [(3 β)-3-hydroxy-20-oxo-30-norlupan-28-ová kyselina] je pentacyklický triterpenoid 30-norlupanového typu, vyskytující se v rostlinách čeledi *Platanaceae* (*Platanus x hybrida* Brot. a *Platanus occidentalis* L (cit.²). Lze ji jako minoritní složku izolovat z rostliny balmín metlatý (*Leptospermum scoparium*, čeleď *Myrtaceae*)^{2,7}. Vzhledem k menšímu obsahu v rostlinách, platanovou kyselinu získáme syntetickou cestou založenou na oxidaci ze snadno dostupných triterpenoidů, jako je betulin. Oxidace C20(29)-nenasycené vazby může být provedena pomocí RuO_4 (*m*-CPBA a CHCl_3) nebo $\text{OsO}_4/\text{NaIO}_4$ ve vodném dioxanu⁷. V porovnání s betulonovou kyselinou, má ketoskupinu umístěnou na C-20, který je součástí řetězce, napojeného do pětičlenného kruhu E (cit.⁹).

2. Syntéza derivátů

Semisyntetické deriváty přírodních produktů jsou navrhovány za účelem zlepšení biologické dostupnosti

(snížení hydrofobicity), překonání buněčné rezistence a posílení terapeutického účinku³. Tímto způsobem lze získat látky se zvýšenou biologickou aktivitou nebo zvýšenou selektivitou působení^{3,10}. Triterpenoidy rostlinného původu jsou důležitým výchozím bodem pro syntézu strukturně rozmanitých derivátů¹¹. Komplexace s cyclodextrinem a lipozomální nanoformulace byly jedním z přístupů ke zvýšení hydrofility látek. Nejběžnějším možným řešením v medicíně je modifikace struktury a substituce různými typy skupin včetně heterocyklů⁵. U nových derivátů lze sledovat vztah mezi strukturou a aktivitou. Modifikace struktury lupanu se běžně provádějí na C-1, C-2, C-18, C-20, C-22 a C-29 (cit.¹²). Dalšími cílovými místy v úpravách skeletu triterpenoidu jsou C-3 (hydroxylová/oxo skupina), C-28 (hydroxylová/karboxylová skupina) a C-30 (allylová skupina) nebo spojení heterocyklů s A kruhem. Jako raménko (linker) spojující skelet s heterocykly může být používána 1,2,3-triazolová skupina⁵. Častou strukturální modifikací je substituce piperazinem, kde dva dusíkové atomy představují vhodný linker pro tvorbu dalších strukturních motivů¹. Zavedením piperazinylové skupiny do triterpenoidních struktur dochází ke zvýšení biologických aktivit (protinádorové, antimikrobiální, antivirové, antimalarické, aj.)¹¹. Deriváty mohou být strukturně modifikovány na kruhu A (C-3 a C-2), na karboxylové funkční skupině (vznik amidového nebo esterového postranního řetězce)⁶. Původní kyseliny (betulinová nebo platanová) mají relativně nízkou cytoto-

xicitu v porovnání s polosyntetickými deriváty, např. 3-*O*-acetylované amidy těchto kyselin. Deriváty benzylamidů, (homo)-piperazinyl amidů nebo konjugáty rhodaminu B mají cytotoxické účinky i v nanomolárních koncentracích¹³. Zavedení piperidinu nebo pyrrolidin-nitroxylu pomocí amidové vazby do polohy C-28 betulonové kyseliny způsobuje optimalizaci hepatoprotektivních vlastností. Přítomnost 1,3,4-oxadiazolů připojených přes aminokyselinový řetězec v poloze C-28 vykazuje *in vivo* protizánětlivý účinek. Dalším derivátem betulonové kyseliny vykazující protizánětlivý účinek je derivát se substituovaným heterocyklem 1,2,3-triazolem v C-28 poloze⁵. Deriváty betulonové kyseliny s amidovými, thiolovými a piperidinovými skupinami amplifikují protinádorové vlastnosti betulonové kyseliny³. Kromě syntézy aminových a amidových derivátů je popsána jako další z efektivních způsobů modifikace také syntéza oximových derivátů⁹. Přehledový článek Bednarczyk-Cwynar a spol.¹⁴ podrobně shrnuje poznatky o triterpenických oximech a oximesterech do roku 2015, v dalších letech se tímto tématem zabývali například Kahnt a spol.⁹, Kozubek a spol.¹⁵ nebo Lombrea a spol.³. Oximová funkční skupina patří do skupiny iminů a je charakteristická dvojnou vazbou mezi atomem uhlíku a dusíku, jehož součástí je hydroxylová skupina¹⁶. Oximové deriváty lze syntetizovat pomocí reakce karbonylových sloučenin (aldehydů nebo ketonů) s činidlem hydrochloridu hydroxylaminu za přítomnosti nejčastěji bezvodého organického rozpouštědla suchého pyridinu spolu s methanolem nebo ethanolem a zahříváním pod refluxem, a to ve vysokých výtěžcích (schéma 2)^{14,17–19}. Reakce vyplývá z nukleofilní adice, kde nukleofilní skupina, hydrochlorid hydroxylaminu, atakuje elektrofilní místo karbonylové skupiny. Reakcí lze získat také směs produktu obsahující oxim jako isomer ve dvou konfiguracích *syn* a *anti*²⁰. Kromě dalších možností můžeme oximy dále modifikovat působením acylačních a alkylačních činidel na oximestery nebo oximethery. Jedním ze způsobů přípravy oximesterů je syntéza acylhalogenidů kyselin s oximy za běžných podmínek nebo reakce anhydridů kyselin s oximy v přítomnosti silné kyseliny^{21–23}. Dalším způsobem je přímá esterifikace mezi karboxylovou kyselinou a alkoholem s využitím karbodiimidových činidel (např. EDCI) v přítomnosti DMAP v DCM za pokojové teploty, vedoucí k vysokým výtěžkům v optimálním čase^{21,24}. V případě syntézy oximetherových derivátů je realizována nejčastěji reakce oximů s alkyl/arylhalogenidy, nejčastěji chloridy případně bromidy. Reakční podmínky pak záleží na volbě báze a rozpouštědla, např. NaH v DMF (cit.²⁵).

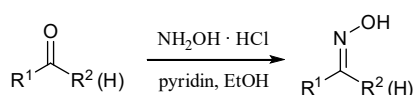


Schéma 2. Syntéza oximových derivátů (R^1 a R^2 – různé substituenty)

3. Biologické aktivity

Výzkum pentacyklických triterpenoidů začal již v roce 1788, kdy byl poprvé extrahován betulin z rostlinného materiálu. Na počátku a v polovině 20. století byla látka hojně studována, avšak její farmaceutický význam byl zaznamenán až později. V roce 1995 E. Pisha pozoroval cytotoxický účinek betulinové kyseliny proti buňkám melanomu, díky němuž vzrostl zájem o studium těchto látek¹³. Po provedení mnoha studií bylo odhaleno, že pentacyklické triterpenoidy disponují řadou biologických aktivit, jako jsou protinádorová, antimikrobiální, antivirová, antidiabetická, protizánětlivá, hepatoprotektivní, imunostimulační a antioxidační aktivity, které lze využít v léčebné terapii⁵. Velkou pozornost si získala kyselina betulinová, která je známa svými protinádorovými nebo anti-HIV účinky. Je účinná v mikromolárních koncentracích a vykazuje vysoký stupeň selektivity k maligním nádorům, například proti buňkám melanomu. Působí mechanismem zahrnujícím permeabilizaci mitochondriální membrány s uvolňováním faktoru cytochromu c, aktivátoru kaspasy Smac nebo faktoru AIF, aktivaci kaspas, jadernou fragmentaci a indukcii apoptózy⁶. Antihyperlipidemická aktivita byla sledována u betulinové kyseliny při testování na obézních myších¹. Betulin a betulinová kyselina zvyšují absorpci glukosy, zvyšují sekreci inzulinu, zvyšují vychytávání glukosy v periferních orgánech a pomáhají tak v léčbě diabetu. Stejně jako betulin, betulinová kyselina snižovala hladinu glukosy v krvi, plazmatické triglyceridy a hladiny celkového cholesterolu v myším modelu krmeném stravou s vysokým podílem tuku. U kyseliny betulinové byly pozorovány *in vitro* antioxidační účinky. Bylo prokázáno, že některé deriváty platanové kyseliny jsou účinnými inhibitory butyrylcholinesterasy BChE (EC 3.1.1.8)³. U derivátů platanové kyseliny, které měly C-20 karbonylovou skupinu modifikovanou na aminoskupinu, bylo sledováno vylepšení BChE inhibiční aktivity již v nanomolárních rozmezích². Přírodní látky by tak mohly být aplikovány do odvětví medicíny, kde zároveň roste zájem o jejich používání¹⁴. Nicméně doposud se nepodařilo zavést sloučeninu z této třídy nebo její derivát do terapie. Druhé fáze klinických studií dosáhl pouze bevirimat pro své anti-HIV účinky, avšak studie byla v roce 2010 přerušena⁵. V dnešní době je přibližně 50 % všech schválených léčiv tvořeno nebo odvozeno z přírodních látek²⁶. Avšak limitací použití pentacyklických triterpenoidů v terapii je jejich vysoká lipofilita mající vliv na biodostupnost *in vivo*⁵. Strategie chemické modifikace původních struktur může přispět k získání mnoha nových derivátů, které mají výhodnější farmakologickou aktivitu^{10,14}.

Současný výzkum v medicíně se věnuje problematice bakteriálních infekcí. Asi nejvýznamnějším příkladem patogenní bakterie může být grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus*²⁷. Podle publikovaných údajů²⁸ triterpenoidy vykazují antimikrobiální aktivitu proti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a *Enterococcus faecalis* v koncentracích mezi 0,006–200 mg ml⁻¹. U betulonové

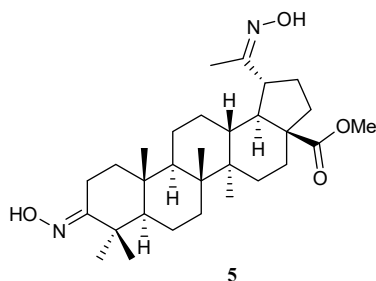
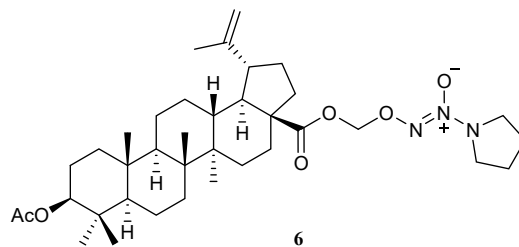
a platanové kyseliny je popsána zejména účinnost proti grampozitivním bakteriím v porovnání s gramnegativními, a to s největší citlivostí vůči bakteriím *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus faecalis*^{29–31}. Výzkum Kazakové a spol.³¹ ukázal, že betulonová kyselina v koncentracích do 80 mg ml⁻¹ snížila růst *Staphylococcus aureus* a v koncentracích 90 a 100 mg ml⁻¹ zcela potlačila růst této bakterie. Nicméně proti *Klebsiella pneumoniae* se účinek projevil pouze snížením růstu, nikoliv úplným potlačením růstu³¹. Betulonová kyselina derivatizovaná tri-Boc-sperminem v pozici C-28 vykazuje antimikrobiální účinky na *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* a *Listeria monocytogenes* při koncentraci 6,25 mM (cit.³²). Poumale a spol.³³ zkoumali antibakteriální účinky platanové kyseliny v extraktu z *Dorstenia convexa*. Platanová kyselina zde inhibovala růst všech zkoumaných bakterií, mezi nimiž byly *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* a další, její účinek je srovnatelný s betulonovou kyselinou³³. V dnešní době je velkou výzvou aktivní hledání a vývoj nových antibiotik³⁴. WHO prohlásila rezistenci k antibiotikům za jednu ze tří hlavních hrozeb pro veřejné zdraví^{14,35}.

V řadě publikací je u triterpenových kyselin také popsána antivirová aktivita. U betulinové kyseliny je zkoumána zejména anti-HIV aktivita. Virus HIV byl poprvé identifikován před 30 lety. Betulinová kyselina zabraňuje dozrávání viru tím, že nedochází ke štěpení capsid-spacer peptidu u Gag proteinu. Betulinová kyselina působí také proti Herpes simplex viru (HSV-1, HSV-2), Epstein-Barrové viru (EBV) a proti hepatitidě B (HBV)¹. Bylo zjištěno, že platanová kyselina a její deriváty vykazují značnou aktivitu proti HIV inhibicí replikace HIV-1 v buňkách H9 lymfocytů^{7,9,36,37}. Methyl-3,20-bisoximoplanoát (**5**, obr. 3) vykazuje antivirové účinky proti HSV-1 a HPV-11 s EC₅₀ > 1,20 μM a 3,47 μM (cit.⁷).

U betulinové kyseliny byla prokázána antivirová aktivita zejména proti virům HSV-1 a EBV (cit.³⁸). Její oximový derivát byl popsán jako účinný proti viru *Influenza A* (cit.^{27,38}).

Rakovina i přes veškeré úsilí prevence a léčby představuje stále druhou nejčastější příčinu úmrtí na světě²⁶. Hlavními příčinami přispívajícími k rozvoji onkologického onemocnění mohou být životní styl, vlivy prostředí nebo dědičné vlivy. Zatímco v regionech s nízkými příjmy

je způsoben vznik rakoviny především virovými a bakteriálními infekcemi, tak ve vyspělých regionech je vznik ze 40 % zapříčiněn rizikovými faktory, jako je užívání tabáku, alkoholu nebo nadváha³⁹. Díky sekvenování genomu bylo zjištěno, že rakovina zahrnuje dynamické změny v genomu⁴⁰. Mutace genů má za následek dysregulaci exprese protoonkogenů (např. Ras) a tumorsupresorových genů (např. p53) majících klíčovou roli v karcinogenezi^{41,42}. Přírodní produkty a jejich deriváty se v průběhu historie ukázaly jako užitečné při vývoji nových chemoterapeutik³. Pentacyklické triterpenoidy byly identifikovány jako účinné protirakovinné látky se selektivním cytotoxickým působením⁴³. Nejčastějším mechanismem protinádorového účinku je indukovaná apoptóza probíhající s aktivací kaspas, mitochondriální permeabilizací a zvýšenou produkcí ROS (cit.²). Bylo pozorováno, že betulinová kyselina má také angiogenní vlastnosti. Molekulární cíle betulinové kyseliny pravděpodobně vyplývají ze změn v modulaci B-buněčného lymfomu (Bcl-2) a jaderného faktoru NF-κB. Rozdíly ve specifitě a mechanismu účinku (stimulaci apoptózy a inhibici kinas) mohou být u betulinové kyseliny způsobeny drobnými modifikacemi ve struktuře. Bylo prokázáno, že kyselina betulinová redukuje některé projevy toxicity protinádorové látky doxorubicinu, který je silně kardiotoxický¹. Betulinová kyselina má silné antiproliferativní účinky proti lidským buňkám melanomu IC₅₀ = 1,5–1,6 μg ml⁻¹, karcinomu plic IC₅₀ = 1,5–4,2 μg ml⁻¹, karcinomu děložního čípku IC₅₀ = 1,8 μg ml⁻¹, atd.³. Zavedení amidové funkce v pozici C-28 vede k vytvoření účinných induktorů apoptózy, vyplývá to z výsledků Shintyapina a spol.⁴⁴, kteří zkoumali inhibiční účinky na buněčné linie MT-4, MOLT-4, CEM (T-lymfoblastická leukemie) a HepG2 (karcinom jater). V rozmezí koncentrací 4,2–32,0 μg ml⁻¹ bylo dosaženo hodnoty 50% inhibice³. Byly zkoumány také di- a polyamin amidové deriváty betulinové kyseliny. Nejvíce cytotoxicky aktivními zde byly deriváty s piperazinem a sperminem. Derivát betulinové kyseliny syntetizovaný z diazen-1-ium-1,2-dioxalátu (**6**, obr. 4) působil antiproliferačně v sub-mikromolárních koncentracích na několika nádorových buněčných liniích a byl 20krát aktivnější než cisplatina¹.

Obr. 3. Methyl-3,20-bisoximo-platanoát (**5**)Obr. 4. Derivát betulinové kyseliny syntetizovaný z diazen-1-ium-1,2-dioxalátu (**6**)

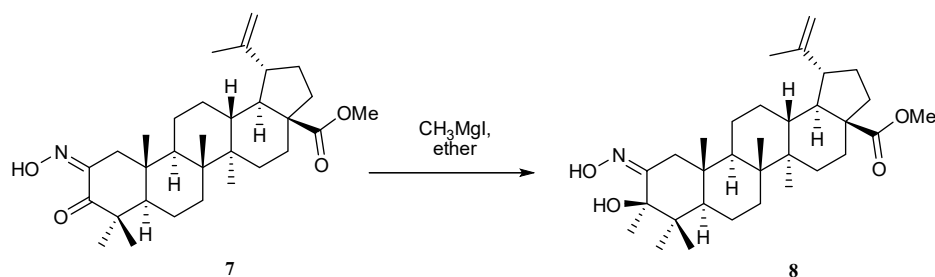
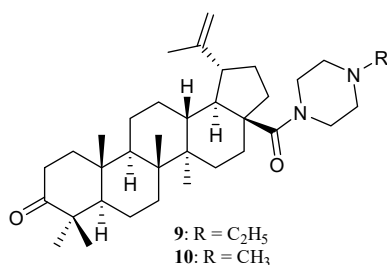
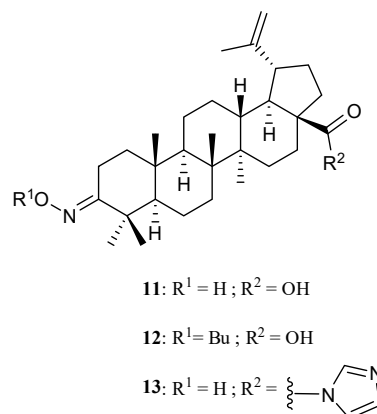


Schéma 3. Syntéza cytotoxicky aktivního C-2-oximového derivátu betulonové kyseliny (8)

Amidové deriváty betulinové kyseliny na bázi polyaminu vázaného k C-17-COOH amidovou vazbou vykazovaly vysokou cytotoxicitu. Analoga vzniklá kombinací esterové a amidové vazby na skupině C-3-OH byla cytotoxická pouze proti buněčným liniím T-lymfoblastické leukémie (CEM) a aktivita na fibroblasty byla nízká oproti C-17 derivátům. Bylo prokázáno, že poloha substituce (*o*-, *m*- a *p*-) pyridinového kruhu v cílových amidech ovlivňuje cytotoxickou aktivitu². Hoenke a spol.¹³ pozorovali nejvyšší aktivitu u amidu betulinové kyseliny s *trans*-1,4-cyklohexyldiaminem, který vykazoval cytotoxicitu $EC_{50} = 0,6 \mu\text{M}$ proti HT29 (buněk adenokarcinomu tlustého střeva)¹³. *In vitro* studie derivátů betulonové kyseliny ukazují cytotoxické účinky proti nádorovým buňkám pocházejícím z melanomu, lymfomu, karcinomu střeva, plic, jater, prostaty, vaječníku, prsu, děložního čípku nebo mnohočetného myelomu, atd.^{3,43}. U betulonové kyseliny byla prokázána vysoká aktivita proti buněčným liniím MEL-2 (melanom), KB (epidermální karcinom), PC-3 (karcinom prostaty) a A549 (adenokarcinom plic)^{43,45}. Oximové deriváty betulonové kyseliny vykazují silnou cytotoxicitu především na buňky HeLa (karcinom děložního čípku), A2780 (karcinom vaječníků), MCF-7 (karcinom prsu) a MOLT-4 (lymfoblastická leukémie)^{3,14}. V přehledovém článku Bildziukevich a spol.¹ je popsána syntéza 2,3-*secotriterpenoidů* zahrnující modifikaci C-2-oximového derivátu betulonové kyseliny (7) na cytotoxicky aktivní derivát (8; schéma 3)¹. Při zavedení amidové skupiny v pozici C-28 betulonové kyseliny vzniká efektivní induktor apoptózy s protinádorovými účinky⁴⁴. *N*-Ethylpiper-

azinamid betulonové kyseliny vykazuje protinádorovou aktivitu proti buněčným kulturám CEM-13, U-937 a MT-4.

Amid betulonové kyseliny s *N*-methylpiperazinem je účinný proti SR (buněčná linie lymfomu), NCI-H460 (karcinom plic) a HCT-116 (karcinom tlustého střeva). Z výsledků Giniyatullina a spol.¹¹ bylo potvrzeno, že po zavedení C-3 oximu k amidu betulonové kyseliny s *N*-methylpiperazinem je látka účinná pouze proti leukemickým buňkám¹¹. Kromě protizánětlivé aktivity je C-28 1,2,3-triazolový heterocyklus klíčový farmakofor derivátů betulonové kyseliny s protinádorovou aktivitou. Konjugát s 3'-deoxythymine-5'-ylem byl neúčinnější proti buněčné linii SNB-19 (glioblastom) s $IC_{50} = 0,17 \mu\text{M}$. Připojením aminothiazolového kruhu ke kruhu A v poloze C-2 a C-3 vykazují deriváty významnou protinádorovou aktivitu proti leukemickým buňkám CEM, karcinomu plic A549, karcinomu tlustého střeva HCT116, atd.⁵. Betulonová kyselina substituovaná piperidinem vykazuje jednu z nejvyšších aktivit⁴⁶. Pyridinová skupina derivátů 3-pyridylideno-28-oxo-allobetulonů byla aktivní proti několika typům nádorů včetně leukemických. Při syntéze 4-pyridylideno-analoga bylo zjištěno, že poloha dusíku má vliv na cytotoxicitu a selektivitu⁵. V přehledovém článku Lombrea a spol.³ je uvedeno, že derivát oximu betulonové

Obr. 5. *N*-ethylpiperazinylamid (9) a *N*-methylpiperazinylamid (10) betulonové kyseliny

Obr. 6. Oximové deriváty betulonové kyseliny

kyseliny (**11**) má silné účinky na buněčnou linii A2780, použije-li se ve vyšší dávce, přičemž nejsilnější aktivitu projevovat butylimin (**12**) proti HeLa buňkám. C-28-imi-dazolid 3-hydroxyimino-lup-20(29)-en-28-karboxylové kyseliny (**13**) inhibuje buněčné linie karcinomu plic, tlustého střeva, prsu, prostaty, vaječníků, buňky leukémie a melanomu, atd. (obr. 6)³.

In vivo protinádorová aktivita nebyla zatím dostatečně prozkoumána z důvodu hydrofobních vlastností betulonové kyseliny³. Některé deriváty betulonové kyseliny konjugované s trifenylyfosfoniovými solemi vykazují lepší antiproliferační účinky selektivně na nádorových buňkách způsobené tím, že nádorové buňky lépe vstřebávají triterpenoidní kyseliny⁴³. Další modifikace thiomorfolinem v pozici C-28 také prokázala dobré výsledky, methylester v pozici C-28 po enkapsulaci do liposomu pro zvýšení biodostupnosti vykazuje třikrát lepší cytotoxické účinky⁴⁷. Substituce v pozici C-17 1,3,4-oxadiazolem má za následek mírně zvýšenou a střední cytotoxickou aktivitu ve srovnání s betulonovou kyselinou⁴⁸. Ganaie a spol.⁶ pozorovali zvýšení cytotoxicity platanové kyseliny po syntéze na aryl-enony. Nejvíce aktivní a s vysokou selektivitou zde byl derivát s *p*-tolylou substitucí, kde proti buňkám MDA-MB-231 (karcinom prsu) a A-549 (karcinom plic) byla aktivita srovnatelná s 5-fluorouracilem⁶. Ve výzkumu Khusnutdinové a spol.⁷ bylo u platanové kyseliny zjištěno, že zavedením benzyldenových skupin do pozice C-2 došlo ke zlepšení protizánětlivé, protinádorové a antidiabetické aktivity. Bylo pozorováno, že methyl-3,20-bis-oximo-platanoát (**5**, obr. 3) byl citlivý vůči buněčné linii karcinomu vaječníků A2780 s $EC_{50} = 9,14 \mu M$ (cit.⁷). Zavedení oximu do pozice C-20 vede k mírným protinádorovým účinkům, přičemž konfigurace oximů nemá vliv na hodnoty EC_{50} . C-20 primární amin platanové kyseliny chráněný methylovou skupinou na C-28 vykazuje protinádorové účinky a vyvolává apoptózu nádorových buněk. Chránění aminového derivátu benzylovou skupinou na C-28 zvyšuje protinádorovou aktivitu, byla prokázána účinnost proti liniím buněk střevního adenokarcinomu⁹. Kozubek a spol.¹⁵ zjistili, že cytotoxická aktivita amidů platanové kyseliny je vyšší než u odpovídajících oximů. Amidy v pozici C-28 odvozené od ethylaminu, morfolinu či homopiperazinu vykazovaly vysokou cytotoxicitu na všechny typy lidských nádorových buněk, ale také na linii nemaligních myších fibroblastů a lidských embryonálních ledvinových buněk¹⁵.

4. Závěr

Úkolem moderní biologie a medicíny je hledání nových vysoce účinných léků proti zmíněným onemocněním⁴⁹. Triterpenoidy se jeví jako perspektivní a hrají tak stále větší roli při objevování a vývoji nových léků¹⁴.

Seznam použitých zkratk

A549	lidská buněčná linie karcinomu plic
A2780	lidská buněčná linie karcinomu vaječníků
AIF	faktor indukující apoptózu
Bcl-2	protoonkogen, regulační protein apoptózy
BChE	butyrylcholinesterasa
CD95	transmembránový receptor
CEM	buňky T-lymfoblastické leukémie
DCM	dichlormethan
DMAP	4-(<i>N,N</i> -dimethylamino)pyridin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
EBV	Epstein-Barrové virus
EC ₅₀	polovina maximální účinné koncentrace
EDCI	<i>N</i> -[3-(methylamino)propyl]- <i>N'</i> -ethylkarbodiimid hydrochlorid
HBV	virus hepatitidy B
HCT-116	lidská buněčná linie karcinomu tlustého střeva
HeLa	lidská buněčná linie karcinomu děložního čípku
HepG2	lidská buněčná linie karcinomu jater
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti
HPV	lidský papilomavirus
HSV	Herpes simplex virus
HT29	lidská buněčná linie kolorektálního adenokarcinomu
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
IL-12	cytokin, interleukin 12
MCF-7	lidská buněčná linie karcinomu prsu
MDA-MB-231	lidská buněčná linie karcinomu prsu
MDR	mnohočetná léková rezistence
MEL-2	lidská buněčná linie melanomu
MOLT-4	lidská buněčná linie leukémie
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> rezistentní k methicilinu
MT-4	buňky T-lymfoblastické leukémie
NCI-H460	lidská buněčná linie karcinomu plic
NF-κB	transkripční faktor
ROS	reaktivní formy kyslíku
Smac	druhý mitochondriální aktivátor kaspasy
SR	lidská buněčná linie lymfomu
TNF-α	tumor nekrotizující faktor α
U-937	lidská buněčná linie histiocytárního lymfomu
WHO	Světová zdravotnická organizace

LITERATURA

1. Bildziukevich U., Özdemir Z., Wimmer Z.: *Molecules* 24, 3546 (2019).
2. Özdemir Z., Wimmer Z.: *Phytochemistry* 203, 113340 (2022).

3. Lombrea A., Scurtu A. D., Avram S., Pavel I. Z., Turks M., Luginina J., Peipins U., Dehelean C. A., Soica C., Danciu C.: *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 3676 (2021).
4. Hordyjewska A., Ostapiuk A., Horecka A., Kurzepa J.: *Phytochem. Rev.* **18**, 929 (2019).
5. Nistor G., Trandafirescu C., Prodea A., Milan A., Cristea A., Ghiulai R., Racoviceanu R., Mioc A., Mioc M., Ivan V.: *Molecules* **27**, 6552 (2022).
6. Ganaie B. A., Shahid M., Rashid A., Ara T., Ahmad Banday J., Malik F., Bhat B. A.: *Chem. Biodiversity* **18**, e2100292 (2021).
7. Khusnutdinova E., Galimova Z., Lobov A., Baikova I., Kazakova O., Thu H. N. T., Tuyen N. V., Gatilov Y., Csuk R., Serbian I.: *Nat. Prod. Res.* **36**, 5189 (2022).
8. Rios J. L., Manez S.: *Planta Med.* **84**, 8 (2018).
9. Kahnt M., Heller L., Grabandt P., Al-Harrasi A., Csuk R.: *Eur. J. Med. Chem.* **143**, 259 (2018).
10. de L. e Silva M., David J. P., Silva L. C., Santos R. A., David J. M., Lima L. S., Reis P. S., Fontana R.: *Molecules* **17**, 12197 (2012).
11. Giniyatullina G. V., Kazakova O. B.: *Chem. Nat. Comp.* **57**, 698 (2021).
12. Salvador J. A. R., Leal A. S., Alho D. P. S., Gonçalves B. M. F., Valdeira A. S., Mendes V. I. S., Jing Y.: *Stud. Nat. Prod. Chem.* **41**, 33 (2014).
13. Hoenke S., Christoph M. A., Friedrich S., Heise N., Brandes B., Deigner H. P., Al-Harrasi A., Csuk R.: *Molecules* **26**, 2102 (2021).
14. Bednarczyk-Cwynar B., Zaprutko L.: *Phytochem. Rev.* **14**, 203 (2015).
15. Kozubek M., Hoenke S., Schmidt T., Ströhl D., Csuk R.: *Med. Chem. Res.* **31**, 1049 (2022).
16. Sahyoun T., Arrault A., Schneider R.: *Molecules* **24**, 2470 (2019).
17. Ledeti I., Avram S., Bercean V., Vlase G., Vlase T., Ledeti A., Zupko I., Mioc M., Suta L. M.: *Molecules* **20**, 22691 (2015).
18. Baltina L. A., Flekhter O. B., Nigmatullina L. R., Boreko E. I., Pavlova N. I., Nikolaeva S. N., Savinova O. V., Tolstikov G. A.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **13**, 3549 (2003).
19. Haavikko R., Nasereddin A., Sacerdoti-Sierra N., Kopelyanskiy D., Alakurti S., Tikka M., Jaffe C. L., Yli-Kauhaluoma J.: *Med. Chem. Commun.* **5**, 445 (2014).
20. da Souza S. L. G. a 11 spoluautorů: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **26**, 435 (2016).
21. Bettadaiah B. K., Kumar S. C. S., Kumar N. V., Srinivas P.: *Synthesis* **46**, 1847 (2014).
22. Karakurt A., Alagoz M. A., Sayoglu B., Calis U., Dalkara S.: *Eur. J. Med. Chem.* **57**, 275 (2012).
23. Dikuser E. A., Zhukovskaya N. A.: *Russ. J. Org. Chem.* **44**, 1389 (2008).
24. Lutjen A. B., Quirk M. A., Kolonko E. M.: *J. Vis. Exp.* **140**, 1 (2018).
25. Kosmalski T., Studzinska R., Daniszewska N., Ullrich M., Sikora A., Marszall M., Modzelewska-Banachiewicz B.: *ChemistryOpen* **7**, 551 (2018).
26. Hoenke S., Heise N. V., Kahnt M., Deigner H. P., Csuk R.: *Eur. J. Med. Chem.* **207**, 112815 (2020).
27. Dayan G. H., Mohamed N., Scully I. L., Cooper D., Begier E., Eiden J., Jansen K. U., Gurtman A., Anderson A. S.: *Expert Rev. Vaccines* **15**, 1373 (2016).
28. Chue K. T., Chang M. S., Ten L. N.: *Chem. Nat. Compd.* **47**, 759 (2011).
29. Haque S., Nawrot D. A., Alakurti S., Ghemtio L., Yli-Kauhaluoma J., Tammela P.: *PLoS One* **9**, e102696 (2014).
30. Hernández-Pérez M., López-García R. E., Rabanal R. M., Darias V., Arias A.: *J. Ethnopharmacol.* **41**, 115 (1994).
31. Kazakova O. B., Giniyatullina G. V., Tolstikov G. A., Medvedeva N. I., Utkina T. M., Kartashova O. L.: *Bioorg. Khim.* **36**, 416 (2010).
32. Bildziukevich U., Malik M., Özdemir Z., Rarova L., Janovska L., Slouf M., Saman D., Sarek J., Nonappa, Wimmer Z.: *J. Mater. Chem. B* **8**, 484 (2020).
33. Poumale H. M. P., Amadou D., Shiono Y., Kapche G. D. W., Ngadjui B. T.: *Asian J. Chem.* **23**, 525 (2011).
34. Karaman R., Jubeh B., Breijyeh Z.: *Molecules* **25**, 1340 (2020).
35. Giniyatullina G., Petrova A., Mustafin A., Zileeva Z., Kuzmina U., Vakhitova Y., Kazakova O.: *Med. Chem. Res.* **1** (2021). <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-327649/v1>.
36. Heller L., Kahnt M., Loesche A., Grabandt P., Schwarz S., Brandt W., Csuk R.: *Eur. J. Med. Chem.* **126**, 652 (2017).
37. Fujioka T., Kashiwada Y., Kilkuskie R. E., Cosentino L. M., Bailas L. M., Jiang J. B., Janzen W. P., Chen I., Lee K.: *J. Nat. Prod.* **57**, 243 (1994).
38. Flekhter O. B., Boreko E. I., Nigmatullina L. R., Tretyakova E. V., Pavlova N. I., Baltina L. A., Nikolaeva S. N., Savinova O. V., Eremin V. F., Galin F. Z.: *Russ. J. Bioorg. Chem.* **30**, 80 (2004).
39. Brennan P., Davey-Smith G.: *J. Natl. Cancer Inst.* **114**, 353 (2022).
40. Hanahan D., Weinberg R. A.: *Cell* **100**, 57 (2000).
41. Roy P. S., Saikia B. J.: *Indian J. Cancer.* **53**, 441 (2016).
42. Kontomanolis E. N., Koutras A., Syllaios A., Schizas D., Kalagasidou S., Pagkalos A., Alatzidou D., Kantari P., Ntounis T., Fasoulakis Z.: *JBUON* **26**, 1723 (2021).
43. Tsepaeva O. V., Nemtarev A. V., Salikhova T. I., Abdullin T. I., Grigor Eva L. R., Khozyainova S. A., Mironov V. F.: *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **20**, 286 (2020).
44. Shintyapina A. B., Shults E. E., Petrenko N. I., Uzenkova N. V., Tolstikov G. A., Pronkina N. V., Kozhevnikov V. S., Pokrovsky A. G.: *Russ. J. Bioorg. Chem.* **33**, 579 (2007).
45. Tolstikova T. G., Sorokina I. V., Tolstikov G. A., Tolstikov A. G., Flekhter O. B.: *Bioorg. Khim.* **32**, 42 (2006).

46. Yang S. J., Liu M. C., Zhao Q., Hu D. Y., Xue W., Yang S.: *Eur. J. Med. Chem.* 96, 58 (2015).
47. Csuk R., Stark S., Nitsche C., Barthel A., Siewert B.: *Eur. J. Med. Chem.* 53, 337 (2012).
48. Antimonova A. N., Petrenko N. I., Shakirov M. M., Pokrovskii M. A., Pokrovskii A. G., Shul'ts E. E.: *Chem. Nat. Compd.* 50, 1016 (2014).
49. Dubinin M. V., Semenova A. A., Ilzorkina A. I., Mikheeva I. B., Yashin V. A., Penkov N. V., Vydrina V. A., Ishmuratov G. Y., Sharapov V. A., Khoroshavina E. I.: *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* 1862, 183383 (2020).

L. Černá^a, Z. Wimmer^b, A. Massyagutova^a, and P. Lovecká^a (^a *Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic,* ^b *Department of Chemistry of Natural Compounds, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic*): **Betulonic and Platanic Acids as a Basis for the Synthesis of New Therapeutically Effective Substances**

Natural substances produced by plants represent an important source of new medicinal products. This article is focused on the description of the antimicrobial, antiviral, and cytotoxic activity of the synthesized derivatives of betulonic and platanic acids, especially their oxime-based derivatives. It is also aimed at providing overview of the possible use of these derivatives in the treatment of infectious or cancer diseases.

Keywords: betulonic acid, platanic acid, oxime derivatives, antiviral activity, antibacterial activity, anticancer activity



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoli média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

PRUDKÝ ODVAR Z VRBOVÉ KŮRY

MICHAL JURÁŠEK^a, LUBOMÍR OPLETAL^b a PAVEL DRAŠAR^a^a Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Katedra farmakognozie a farmaceutické botaniky, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Akademičtí Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Česká republika

jurasekm@vscht.cz, opletal@faf.cuni.cz, drasarp@vscht.cz

Došlo 8.1.24, přijato 22.1.24.

Povídka o aspirinu je napínávací a komplikovaná. Pokusili jsme se rozklíčovat úlohu hlavních hrdinů, ale i široké pole biologických účinků kyseliny acetylsalicylové, superléku, jehož použití by dnes odpovědné instituce neschválily, a který i přesto patří k nejužívanějším lékům na Zemi i mimo ni (používali jej kosmonauté projektu Apollo na bolesti zubů). Snažili jsme se co nejvíce používat původní zdroje literatury s cílem narovnat některé dezinformace vyskytující se kolem tohoto tématu. Autoři jsou si vědomi, že Aspirin je chráněný název, který však v běžné lidské mluvě „zlidověl“.

Klíčová slova: historie, aspirin, acylpyrin, kyselina acetylsalicylová, salicin, E. Stone, P.-J. Leroux, J. A. Buchner, R. Piria, C. F. Gerhardt, A. E. Eichengrün, F. Hoffman, H. Dreser, J. R. Vane

Obr. 1. Vrba (*Salix alba*)¹

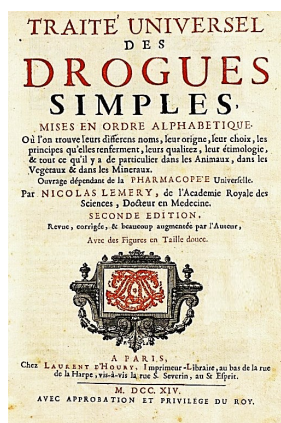
Je pozoruhodné, že historie aspirinu sahá do minulosti tak dávno, jako je 3500 let. Látka patří do skupiny sloučenin nazývaných „salicyláty“, z nichž nejjednodušší je kyselina salicylová. Rostliny obsahující tyto sloučeniny (včetně konjugátů, jako např. glykosidů a esterů) se nacházejí po celém světě, příkladem budiž vrba (*Salix alba*, obr. 1, cit.¹), myrta (*Myrtus communis*), tužebník jilmový (*Filipendula ulmaria*) a mnohé

další. Mnohé z nejstarších civilizací světa rozpoznaly léčivou hodnotu, kterou tyto rostlinné drogy mají, a používaly je k léčbě různých onemocnění. Například Ebersův papyrus, staroegyptský lékařský text z doby kolem roku 1550 před naším letopočtem, popisuje použití vrby a myrty k léčbě horečky a bolesti². Staří Sumerové používali vrbovou kůru jako lék, např. proti bolestem³.

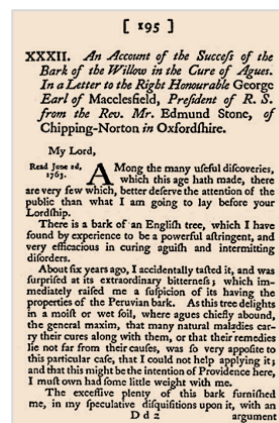
Sám Hippokrates obhajoval používání čaje z vrbové kůry chuti svíravé⁴ (svíravá chuť je však dána nikoli salicyláty nebo salicinem, i když i tento je rovněž hořký, ale primárně obsahem tříslovin, kterých tam může být až 10 %) ke snížení horečky a zmírnění bolesti, potažmo při porodu. Dioscorides doporučoval nálev z vrby (*Itea*, název v citovaném vydání⁵, přepsaný do latinky je matoucí,



Obr. 2. Matthioliho popis vrby



Obr. 3. Titul Lemerovy knihy



Obr. 4. Stoneův popis vrby

správně má být řecký název *ιτιά* s přepisem do latinky *itiá*) jako analgetikum, což činil i Matthioli⁶. Na půdě staré mimoantické Evropy proslul použitím odvaru z vrby svatý Kevin z Glendaloughu (Cóemgen), Ir, žijící v šestém století našeho letopočtu³.

V 17. století Nicolas Lémerý (1645–1715) ve své knize⁷ o jednoduchých drogách, publikované poprvé v roce 1698, popisuje zejména „febrifuzní“ (pravopisně, i když zastarale, by mělo být lépe febrifugní, tj. horečku vyhánějící, antipyretický) charakter vrby. Starý český lidový návod používal odvar z vrbové kůry⁸ na problémy gynekologické, svrab, vředy apod., tak jako výše uvedený Matthioli (salice)⁹. Jindy je doporučován proti krvácení z nosu¹⁰, zimnici¹¹, průjmu domácích zvířat¹², k léčení hemeroidů¹³ a žloutenky¹⁴, a někdy se přidávala hořká vrbová kůra i do piva¹⁵.

Skokem vpřed do moderní doby byla vůbec první zaznamenaná klinická studie zaměřená na vrbovou kůru, když v roce 1763 reverend Edward Stone z Chiipping Norton (1702–1768; zaměňovaný za matematika Edmunda Stone¹⁶), oxfordský přírodovědec, duchovní a fellow z Wadham College na Oxfordské univerzitě, hledal prostředek na léčbu příznaků malárie¹⁷. V mleté vrbové kůře, kterou studoval pro její hořkou chuť (připomínala mu chuť kůry chinovníku), našel slibný prostředek. Později napsal lékař Samuel James (cca 1763–1831) knihu¹⁸ *Observations on the Bark of a Particular Species of Willow ...*, kde doporučuje odvar na různé druhy horeček, výtok z pochvy, abscesy a krvácení. Podobnou knihu¹⁹ vydal v roce 1798 i William White, lékař z města Bath. Jako jejich následovníka máme zdokumentován případ, kdy lékař George Wilkinson (1752–1831) odvarem z vrbové kůry²⁰ léčil i tyfus²¹. Snažil se popularizovat tento prostředek, a dokonce rozeslal britským lékařům vzorek kůry²² s vysvětlujícím „cirkulářem“. Trvalo ale téměř 100 let, než věda odhalila jeho tajemství.

V roce 1825 Francesco Fontana (1794–1867), lékárník z Larizy u Verony, izoloval nečistou účinnou látku z vrby bílé a nazval ji salicin²³. Krátce na to, údajně inspirován pracemi Wilkinsona, lékárník z Vitry-le-François, Pierre-Joseph Leroux^{26,27} (1795–1870; v literatuře někdy Le Roux, Roux L. G., jindy Roux L. E.) izoloval z vrbové kůry salicin čistý, což publikoval²⁸ v roce 1830. Izolace je též

připisována Johannu Andreasi Buchnerovi (1783–1852; někdy jen A. Buchner, J. Büchner), který údajně o rok dříve izoloval (publikoval též v roce 1830, leč později než Leroux) „hořkou látku z vrby“, salicin²⁹, jak píše jeho syn³⁰ L. A. Buchner ve stati³¹ „Zum 104. Geburtstage von Johann Andreas Buchner“. Nicméně Lerouxovi se podařilo získat hořkou látku vrbové kůry v krystalickém stavu³², a jelikož ji prezentoval ve větším množství a v čisté formě a její vlastnosti podrobněji popsal v článku zaslaném na Académie royale des sciences³³, není ve většině chemických prací zmíněn jako objevitel salicinu ani Fontana, ani Buchner, ale Leroux. Je zajímavé, že *Chemisches Zentralblatt* v redakční poznámce²⁹ pod čarou udává, že Buchner o Lerouxově objevu nevěděl, lze se obávat, že jde o malé nadržování kolegovi.

Obr. 7. J. A. Buchner³⁴Obr. 8. P. J. Leroux³⁵

V literatuře je často jako objevitel salicinu chybně uváděn Charles Leroux³⁶, což byl americký vynálezce, balonový letec a parašutista, případně Charles Henri Leroux, pařížský lékař³⁷, chemik Henri Leroux³⁸ i řada dalších. Citace „Leroux H.: J. Chem. Med. 6, 341 (1830)“, kterou početní autoři opisují jeden od druhého, cituje dílo „pana“ Leroux (M. Leroux) je s největší pravděpodobností pomýlenou citací článku Gay-Lussaca a Magendie³³.

Raffaele Piria (1814–1865), italský chemik pracující v Paříži, hydrolyzoval v roce 1838 salicin z extraktů získaných z vrbové kůry na cukr a aromatickou složku („saligenin“), kterou oxidací přeměnil na kyselinu, kterou pojmenoval „Salicylwasserstoff“, kyselina salicylová^{39,40}. Ta se však ukázala být toxickou a vyvolávala žaludeční problémy.

Obr. 5. G. Wilkinson²³Obr. 6. F. Fontana²⁴

340

JOURNAL DE CHIMIE MÉDICALE

RAPPORT

Fait à l'Académie royale des sciences le 10 mai 1830, sur le mémoire de M. Leroux, relatif à l'analyse de l'écorce de saule et à la découverte d'un principe immédiat propre à remplacer le sulfate de quinine, par MM. GAY-LUSSAC et MAGENDIE.

Obr. 9. Abstrakt článku Gay-Lussaca a Magendie³³



Obr. 10. R. Piria (Wikipedia)

Mimo soutěž pak další francouzský farmakolog, Auguste André Thomas Cahours (1813–1891) prokázal v roce 1844, že olej z libavky poléhavé (*Gaultheria procumbens*), tradiční lék na choroby jako je zimnice, obsahoval methylester kyseliny salicylové⁴¹.

Při aplikaci odvarů např. z vrbové kůry se mělo za to, že se salicylaldehyd uvolňoval hydrolyzou glykosidu působením kyseliny chlorovodíkové v lidském žaludku a oxidací se postupně zčásti přeměňoval na kyselinu salicylovou. Ono je to složité, L. A. Buchner také ve zmíněné stati³¹ dává do souvislosti salicin (2-(hydroxymethyl)-fenzyl-β-D-glukopyranosid) a helicin (2-formylfenzyl-β-D-glukopyranosid), o co přesně ale tehdy šlo, je těžké zjistit.



Obr. 11. A. Cahours (Wikipedia)

V devatenáctém století začali lékárníci experimentovat s různými sloučeninami příbuznými kyselině salicylové. V roce 1853 Francouz z Alsaska Charles Frédéric Gerhardt (1816–

1856) připravil a o rok později publikoval přípravu „wasserfreie Salicylsäure-Essigsäure“, neboli kyseliny acetylsalicylové⁴²; alternativní postup publikoval Rakušan Hugo von Glim⁴³. V roce 1892 publikoval Paul Freer práci, kde zmiňuje reakci mj. acetylchloridu a salicylové kyseliny⁴⁴. Chemical Abstracts jako nejstarší práci zmiňující kyselinu acetylsalicylovou uvádějí publikaci G. C. Fostera z let 1860–1861; v originálu práce⁴⁵ se nám však zmíněnou látku nepodařilo identifikovat, nicméně v polovině devatenáctého století se dalo stěží hovořit o názvosloví.

Pharmaceutisches Central Blatt.

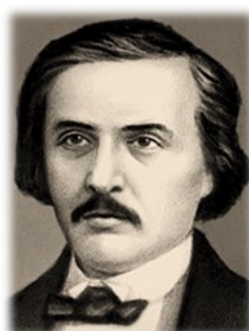
15. Juni 1839.  №. 24.

Redaction: Dr. A. Weinlig und Dr. E. Winkler.

INHALT. Salicin und seine Produkte von Piria und Dumas und über salicylige Säure von Ettling. — Künstliche Bildung des Chlors auf galvanischem Wege von Reinsch.

KL. MITTH. Darstellung von kryst. Schwefelnatrium. — Kientéine. — Meconsaures Morphin. — Veilchenzucker und Veilchensyrup. — Kohlensäure, Cinchonin und Chinin. — Zersetzungsprodukte des xanthogens. Bleioxyds und Kali's. — Blut bei Amenorrhöe. — Corrigans Apparate zu Inhalationen aller Art. — Jod im Leberthran. — Trennung von Kobalt und Mangan.

Ueber Salicin und seine Produkte von PIRIA und DUMAS und über salicylige Säure von ETTLING.

Obr. 12. Titul původní Piriovy publikace⁴⁰

Obr. 13. C. F. Gerhardt (Wikipedia)



Obr. 14. A. E. Eichengrün (Wikimedia)

Trvalo ale opět téměř půl století, než chemik Arthur Ernst Eichengrün (1867–1949) s kolegy v roce 1897 přesvědčili řadu farmakologů, aby preparát testovali, a nakonec i německou společnost Friedrich Bayer & Co. v Elberfeldu (kde byli zaměstnáni ve farmaceutické laboratoři u této firmy, specializující se původně na výrobu barev), aby tento lék uvedla na trh. Zdá se, že acetylace byla u Bayerů populární, vyvinuli zde acetát celulosy, ale pracovali i s heroinem (diamorfin = diacetylmorfin) a není divu, že acetylovali i kyselinu salicylovou. Žid Arthur Eichengrün později od Bayerů odešel, aby se udělal „pro sebe“, jako továrník vyrábějící zmíněnou acetylovanou celulosu (do roku 1938, kdy byl arizován). Později byl podle říšských zákonů uvězněn a „zapomenut“. Eichengrünův spolupracovník a (podle některých autorů) „technik či laborant“ Felix Hoffman (1868–1946) si „vynález“ údajně přivlastnil^{46,47} s tím, že látku vyvinul proto, že prý jeho otec neměl rád hořkou chuť sodné soli kyseliny salicylové, kterou užíval na revma. Pozice laboranta, pracujícího pod vedením Eichengrüna, je u Hoffmanna přinejmenším sporná, protože Hoffmann měl doktorát z mnichovské univerzity, dokonce „magna cum laude“ a byl prakticky stejně starý^{48,49}.

Eichengrün, který se navrátil domů z terezínského koncentračního tábora, pak v roce 1949 objev nárokoval s tím, že Hoffmann, který krátce před tím zemřel, pracoval podle jeho pokynů a tomu, co a proč dělal ani nerozuměl, krátce na to však také zemřel 23. 12. 1949 ve věku 82 let v Bad Wiessee v Bavorsku⁵⁰. Eichengrün ještě před smrtí

napsal, že jeho cílem bylo získat derivát, který by nezpůsobil nežádoucí účinky (podráždění žaludku, nevolnost nebo tinnitus (hučení a pískání v uších), které byly často spojovány se salicylátem sodným⁵¹.

Na okraj lze pro pořádek uvést, že Heinrich Dreser (1860–1924), vedoucí experimentální farmakologické laboratoře v Elberfeldu, údajně experimentoval s acetylsalicylovou

Obr. 15. F. Hoffmann⁴⁹

Databáze terezínských vězňů a osob deportovaných do ghett Lódž, Minsk a do pracovního tábora Ujazdów	
Jméno	Arthur Ernst
Příjmení	Eichengrün
Datum narození	13. 8. 1867
Titul	Dr. phil. Ing.
Označení transportu do Ujazdowa (1942) a ghett Lódž (1941), Minsk (1941), Terezín (1941–1945)	I/112, 26. 5. 1944, Berlín → Terezín, 32?
Transportní číslo do Ujazdowa (1942) a ghett Lódž (1941), Minsk (1941), Terezín (1941–1945)	14780
Místo osvobození	Terezín
Osud	Přežil/a

Obr. 16. Výpis z databáze terezínských vězňů⁵²

kyselinou již v roce 1897, ale s výsledky nebyl spokojen a od dalšího pokračování výzkumu této látky prý upustil. Stať o aspirinu publikoval až později⁵³, podpořil zde jeho alkalickou hydrolyzu, ale popisuje i pozitivně inotropní aktivitu aspirinu. Širokou diskusi na komplikované historické téma objevu samotného aspirinu shrnul a publikoval Walter Sneader se závěrem klonícím se ve věci práv na vynález na stranu Eichengrüna⁵⁴.

Pro látku zavedli u Bayerů název „aspirin“ spojením „a“ z acetylchloridu se „spir“ ze *Spirea ulmaria*, což je dřívější pojmenování rostliny, nyní správně *Filipendula ulmaria* (s českým názvem tužebník jilmový, který je v některých pramenech uváděn i jako tavolník), z níž švýcarský chemik Johann Pagenstecher izoloval⁵⁵ „spirsäure“,



Obr. 17. Laboratoř H. Dresera (na obrázku druhý zprava; Wikimedia)

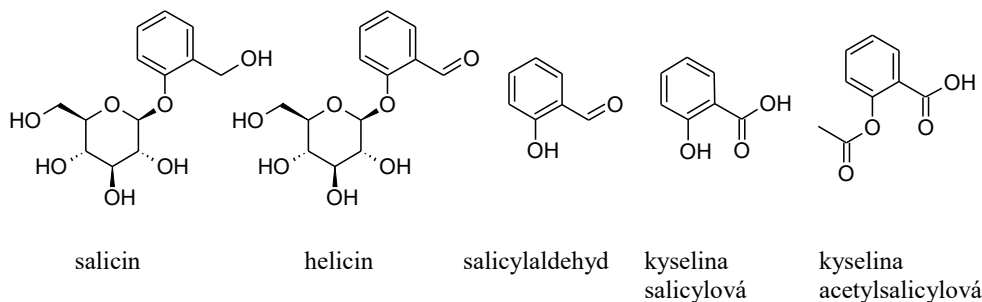


Obr. 18. Bayerův Aspirin (Bayer Co., USA)

kteou Karl Jacob Löwig ztotožnil⁵⁶ s kyselinou salicylovou – „Salicylwasserstoff“. Tužebník se odedávna používal díky své velmi příjemné vůni i jako vonná rostlina do prostor domů, také se přidával do ovocných šťáv a medovin⁵⁷. Z této rostliny u Bayerů původně získávali kyselinu salicylovou, ta se však později (z důvodu izolační neproduktivnosti) vyráběla např. Kolbeho-Schmittovou reakcí z fenolu⁵⁸. To „-in“ bylo v té době jen módní zakončení léčiv. V roce 1898 podal Hoffmann na aspirin patentovou přihlášku a v roce 1900 obdržel i americký patent⁵⁹, když se v přihlášce patentu opřel o fakt, že předchozí publikace Krauta o acetylsalicylové kyselině neuváděla její kvalitní fyzikálně chemický popis. Věc je zajímavá, protože uváděný autor Kraut v přihlášce citovaném časopise *Annalen der Chemie und Pharmacie*, podle *Chemical Abstracts* o salicylové kyselině nepublikoval a v patentu uvedená citace nebyla nalezena. Jakýkoliv Kraut dokonce nepublikoval o salicylové kyselině žádnou práci, která by byla podchycena v CA. Nabízí se myšlenka, že Hoffmann byl pěkný filuta. Příběh trochu připomíná historku udělení Nobelovy ceny za chemii z roku 2022 (cit.⁶⁰).

Naše lékárnictvo bylo dobře informováno a již v roce 1899 přinesl *Časopis českého lékárnictva*⁶¹ následující zprávu:

„Novější léčiva: Aspirin C_6H_4 $\begin{matrix} \text{COOH} \\ \text{OCOCH}_3 \end{matrix}$, kyselina acetylsalicylová tvoří bílé jehlicovité krystalky, rozpouštějící se ve 100 č. vody 37°, snáze v rozpustidlech ústrojných. Požívá se v dávkách 4–5 gr, *pro die* (v denní dávce, pozn. red.) při hostci (revma, pozn. red.) kloubů a svalů, jakož i *pleuritis sicca* (tzv. suchém zánětu pohrudnice, pozn. red.) a *exsudativa* (zánět pohrudnice, kdy je vytvořen pohrudniční výpotek, pozn. red.). Jeví před jinými salicylovými přípravky tu přednost, že se štěpí teprve v alkalické šťávě střevní, následkem čehož sliznici žaludku nedráždí.



Chuti jest příjemné a vedlejších nepříjemných účinků nejeví.“ (To je na svoji dobu dobrý postřeh, protože deacetylace dobře probíhá již katalytickým množstvím alkálie.)

Abychom u nás nebyli v konfliktu, jako např. Emil Šedivý, pražský lékárník, který kyselinu acetylsalicylovou prodával, a dostal se do sporu s firmou Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co., kdež pak, po domluvě, od tohoto pojmenování ustoupil⁶², již od dob prvé republiky vyráběla např. Akciová lučební továrna Kolín acylpyrin⁶³, v jehož názvu vidíme acyl a antipyretickou aktivitu.

Kyselina acetylsalicylová krystaluje ve dvou krystalových formách (dimorfie); forma I (cit.⁶⁴) a forma II (cit.⁶⁵), které jsou morfologicky značně blízké a které nemají nutně všechny fyzikálně chemické vlastnosti stejné, a navíc mohou přecházet jedna v druhou⁶⁶, např. při procesech jako Viedmovo zrání⁶⁷. V roce 2010 byla podána patentová přihláška nárokovájící polymorf nový⁶⁸, patent zřejmě udělen nebyl. Firma Bayer AG údajně prodává aspirin ve formě I s tím, že má mít lepší biodostupnost. Jiná metoda zvýšení biodostupnosti je příprava tablet společným mletím aspirinu a látky napomáhající rozpouštění, jako jsou uhličitany nebo hydrogenuhličitany sodný či vápenatý, který potahuje krystaly. Směs se potom lisuje za vzniku tablet, které mají zlepšený profil rozpouštění pro léčebně aktivní složku⁶⁹. Takzvaný New AspirinTM obsahuje kyselinu acetylsalicylovou ve formě mikročástic, které mají v průměru 10 % velikosti částic nacházejících se v předchozích tabletách AspirinuTM. Mikročástice jsou kombinovány s uhličitany sodným, který působí jako dezintegrační činidlo a lokální pufr, což pomáhá New AspirinuTM rychleji se rozpouštět, rychleji vstupovat do krevního řečiště a zmírňovat bolest dvakrát rychleji než jiné tablety s touž aktivní substancí^{70,71}.

Podle příbalových letáků zveřejněných SÚKL⁷² se kyselina acetylsalicylová používá k symptomatické léčbě horečky a/nebo mírné až středně silné bolesti, jako je bolest hlavy, chřipkový syndrom, bolest zubů, menstruační bolesti, nebo bolest svalů, potlačuje také zánětlivou reakci; v těchto případech je jednotlivá dávka 400–500 mg. V případě tablet s obsahem 100 mg léčiva, tj. v nižších dávkách, brání tvorbě krevních sraženin. SÚKL eviduje toto léčivo buď jako monokomponentní, anebo s dalšími léčivy podobného charakteru (celkem je registrováno zhruba 50 přípravků v různé síle a provedení). Nejznámější přípravky u nás s obsahem kyseliny acetylsalicylové jsou Acifein, Acygal, Acylcoffin, Acylpyrin, Acylpyrin s vitamínem C, Algirin, Anopyrin a Aspirin⁷².

Kyselina acetylsalicylová má kromě analgetických, antipyretických a antiflogistických vlastností v nízkých dávkách i inhibiční účinky na agregaci trombocytů. Antitrombotický účinek je založen na ireverzibilní acetylaci cyklooxygenasy v trombocytech; dochází k inhibici vzniku tromboxanu A₂. Léčivo vykazuje ve formě pufrovaných tablet nižší výskyt nežádoucích účinků ze strany trávicího ústrojí (především žaludku).

Používá se při nestabilní angina pectoris (doplňková standardní terapie), akutním infarktu myokardu, při prevenci reinfarktu, po arteriálních cévně chirurgických nebo



Obr. 19. J. R. Vane
(Wikipedie)

intervenčních výkonech (např. po aortokoronárním bypassu, při perkutánní transluminální koronární angioplastice). Nalezla poměrně široké uplatnění také při sekundární prevenci tranzitorní ischemické ataky a mozkového infarktu.

Navzdory širokému používání látek obsahujících salicyláty byl po mnoho staletí přesný mechanismus, kterým aspirin uplatňuje své protizánětlivé a analgetické účinky (ač není analgetikum-anodynum), neznámý až do roku 1971.

Výzkum britského farmakologa Sira Johna Roberta Vanea⁷³ (1927–2004) vedl k objevu mechanismu jeho účinku a byl za tuto práci oceněn Nobelovou cenou v roce 1982.

Acetylsalicylová kyselina a další nesteroidní protizánětlivé látky (NSAID) inhibují aktivitu enzymu zvaného cyklooxygenasa (COX)⁷⁴. COX existuje ve dvou izoformách: COX-1 a COX-2, které jsou zodpovědné za produkci prostaglandinů (především PGH₂) a tromboxanů (především TXA₂), dvou typů lipidů, které se nacházejí téměř v každé tkáni v lidském těle. Prostaglandiny jsou zodpovědné za přenos zpráv o bolesti do mozku a zánětu, zatímco tromboxany při uvolnění způsobují vazokonstrikci (zúžení cév) a shlukování krevních destiček, čímž se podílejí na srážení krve, které způsobuje infarkty, snížení tvorby těchto intermediátů dále přispívá ke snížení srážlivosti krve. Acetylová skupina acetylsalicylové kyseliny se nevratně váže na serin v COX-1, čímž inhibuje produkci těchto lipidů. Zmíněná ireverzibilní vazba představuje faktor, kterým se acetylsalicylová kyselina liší od jiných NSAID, protože mnoho z nich, jako je ibuprofen a diklofenak, se váže reverzibilně⁷⁵. Tudíž, jak lze očekávat, existují podstatné důkazy, že nízké dávky (75–325 mg) acetylsalicylové kyseliny mohou být vysoce účinné v prevenci kardiovaskulárních příhod svým antitrombotickým účinkem, jak už bylo dříve uvedeno. Podávání acetylsalicylové kyseliny preventivně před a během srdečního infarktu myokardu nebo náhlé cévní mozkové příhody (u pacientů, kteří k těmto stavům mají náchylnost) může zachránit životy, ale existují rizika spojená s krvácením do mozku nebo žaludku, což vede mnoho lékařů k opatrnosti při doporučování tohoto léčiva jako prevence. Pro snížení zátěže žaludku existuje i varianta aplikace přes pokožku⁷⁶, či *per rectum*⁷⁷. Proti negativnímu působení acetylsalicylové kyseliny může posloužit například gastroprotektivní účinek kapsaicinu z chilli paprik (*Capsicum annuum*)⁷⁸, alkoholový extrakt z bambusu obrovského (*Citrullus melo*)⁷⁹ či indického stromu *Uleria salicifolia*, jakkoliv jsou tyto literární informace kuriozní. Osvědčil se však přidavek Ca²⁺ iontů, resp. tvorba vápenaté soli, která dráždí nejméně, anebo konjugát s glycinem (100 mg acetylsalicylové kyseliny/50 mg Gly) ve formě přípravku Godasal, kdy dochází ke zvýšení rozpustnosti a tím biologické dostup-

nosti acetylsalicylové kyseliny, tedy zároveň k možnému snížení dráždivosti⁸⁰.

I když neexistuje žádný přesvědčivý důkaz, že acetylsalicylová kyselina zabraňuje tvorbě neoplasmů, existuje mnoho studií, které prokazují, že acetylsalicylová kyselina může snížit riziko jejich vzniku⁸¹. Zejména se předpokládá, že může fungovat jako doplňková léčba nádorů prsu, prostaty a tlustého střeva a že protizánětlivé vlastnosti tohoto léku mohou pomoci zabránit šíření neoplastických procesů do jiných částí těla⁸².

Četné studie ukazují, že acetylsalicylová kyselina může pomoci i při léčbě COVID možná právě v důsledku trombocytární agregace. Retrospektivní studie zjistila, že ti pacienti, kteří již užívali acetylsalicylovou kyselinu při kardiiovaskulárních onemocněních, měli o 47 % snížené riziko úmrtnosti a riziko umístění na ventilátor. Dokonce přijetí do nemocnice v první instanci bylo o 40 % nižší. Další studie provedená Oxfordskou univerzitou zjistila, že vlastnosti acetylsalicylové kyseliny na ředění krve předcházely komplikacím způsobeným krevními sraženinami, které se běžně vyskytují v důsledku COVID-19 (cit.⁸³).

Kyselina acetylsalicylová též snižuje vegetační bakteriální hustotu, hematogenní šíření bakterií a frekvenci embolických příhod v experimentální endokarditidě, což způsobuje *Staphylococcus aureus*, mj. prostřednictvím antibakteriálních účinků⁸⁴.

Acetylsalicylová kyselina se používá i proti migréně⁸⁵, udává se, že působí i jako prostředek, jehož cílem je ovlivnit základní příčinu stárnutí a nemocí souvisejících s věkem, a tím prodloužit délku života⁸⁶, udává se ale, že má i teratogenní účinky⁸⁷ a může být alergenem⁸⁸.

Na mnoha místech vidíme varování před kombinací acetylsalicylová kyselina + alkohol⁸⁹. Acetylsalicylová kyselina může měnit absorpci ethanolu a rychlost jeho metabolismu. Příčinou tohoto jevu může být opožděné vyprazdňování žaludku⁹⁰ či snížení aktivity žaludeční alkoholdehydrogenasy^{91,92}. Následkem je potom rychlejší počáteční nárůst koncentrace alkoholu v krvi. Na straně druhé preparát Alka-Seltzer kombinovaný (šumivý) přípravek obsahující acetylsalicylovou kyselinu, kyselinu citronovou a hydrogenuhličitan sodný, který je využíván jako analgetikum-antipyretikum určené zejména pro horečnaté stavy při virových respiračních onemocněních, si vydobyl renomé jako oblíbený prostředek pro zmírnění kocoviny⁹³. Na kocovinu, podle lidově-léčitelské tradice, je používán i Acylcoffin, kombinované analgetikum obsahující acetylsalicylovou kyselinu a kofein. Na stranu druhou bylo v jedné staré studii zjištěno, že malý panák vodky požitý před podáním acetylsalicylové kyseliny snižuje riziko poškození žaludku⁹⁴.

Požitií acetylsalicylové kyseliny, zejména spolknutí celé, nerozpadlé či nečtvrcené tablety bez řádného zapití, může vyvolat krvácení do žaludku. Acetylsalicylová kyselina může způsobit žaludeční bolesti, pálení žáhy, nevolnost, zvracení a ulceraci, perforaci a výrazné krvácení do trávicího traktu. Dyspepsie (souhrnné označení pro různé trávicí obtíže; pozn. red.) je častá, naštěstí však lékaři pacienti poučují, co v takovém případě konat. Pacienti

s aktivním peptickým vředem v anamnéze by se měli vyhýbat acetylsalicylové kyselině. Tato látka může také způsobit hypoglykémii (nebo hyperglykémii) u dětí. Epidemiologické kontrolní studie opakovaně prokázaly, že pacienti přijatí do nemocnice s akutním krvácením do horní části trávicího ústrojí, zejména pacienti bez radiologicky detekované abnormality, obsahují nepřiměřeně vysoký podíl jedinců, kteří užívali analgetika obsahující acetylsalicylovou kyselinu⁹⁵. Nesnášenlivost acetylsalicylové kyseliny způsobuje kožní a/nebo respirační reakce⁹⁶. Obecně vzato lidé nad 60 let a pacienti s trávicími problémy by se měli mít na pozoru před krvácením do žaludku a žaludečními vředy, zejména ve spojení s vyšší dávkou alkoholu. Acetylsalicylová kyselina může údajně zvyšovat krevní tlak a může také znamenat zvýšení rizika pro pacienty s jaterními a ledvinovými problémy. Může také způsobit potíže astmatikům. Je kontraindikována pacientům citlivým na salicyláty a NSAID. Rovněž je kontraindikována u pacientů s astmatem, rýmou a nosními polypy. Může způsobit anafylaxi, laryngeální (hrtanový; pozn. red.) edém, těžkou kopřivku, angioedém (kožní onemocnění s otokem v podkoží na různých místech těla, způsobující potíže), nebo bronchospasmus (astma). Všechny salicylátové produkty také nesou tradiční varování před Reyeovým syndromem, aby se zabránilo použití u dětí nebo dospívajících, kteří mají jakoukoli virovou infekci, s horečkou nebo bez ní. Není dobře, bez konzultace s lékařem, kombinovat acetylsalicylovou kyselinu s léky proti srážlivosti krve, antihypertenzivy, jinými NSAID či kortikosteroidy⁹⁷. Acetylsalicylová kyselina může snižovat účinek inhibitorů angiotensin-konvertujícího enzymu (ACE), diuretik, beta-blokátorů a urikosurik (léčiv, která zvyšují vylučování kyseliny močové močí, jako probenecid a sulfapyrazon), zvýšit toxicitu acetazolamidu a metotrexátu, prodloužit protrombinový čas a dobu krvácení u pacientů užívajících warfarin, zvýšit antikoagulační aktivitu heparinu, snížit hladiny fenytoinu v krvi, zvýšit sérové hladiny kyseliny valproové a zvýšit účinnost perorálních antidiabetik do té míry, že pacient může trpět hypoglykemií. Pokud je acetylsalicylová kyselina podávána současně s jinými NSAID, může zvýšit krvácení nebo snížit funkci ledvin. Již v roce 1909 však i čeští farmaceuti varovali⁹⁸, že: „Aspirin, který byl dosud považován za lék naprosto neškodný, vyvolá u mnohých individuí hučení v uších, bolení hlavy, nevolnost žaludku a dráždění k vrhnutí. Také zevně může působit tvoření různých exanthémů a enanthémů pokožních a na sliznicích. Někdy vyvolá závratě, omámenost a poruší pravidelný tep srdce. Mléko a zásadité vody neměly by se nikdy bezprostředně po užití aspirinu pít, aby rozklad jich nekonal se tak rychle a násilně“.

Je známo, že kombinace aspirinu s některými dalšími léčivy může vést ke zdravotním potížím ale i k smrti⁹⁹. Předávkování aspirinem je velmi vzácné, i když není vyloučeno; příznakem může být *tinnitus* (hučení a pískání v uších), hyperventilace, zvracení, dehydratace, horečka, dvojité vidění a pocit na omdlení. Prostředkem první volby při otravě je podání aktivního uhlí. Orální toxicita LD₅₀

u krysa je 1400 mg kg⁻¹. U lidí se předpokládá toxická dávka¹⁰⁰ větší než 500 mg kg⁻¹. Nejvyšší doporučené dávky dosahují hodnoty⁷⁷ 100 mg kg⁻¹ den⁻¹. Starší balení acetylsalicylové kyseliny, zejména pokud nejsou uschovávány v naprostém suchu, mohou obsahovat hydrolyzou vzniklou kyselinu salicylovou, která má 2–3× vyšší toxicitu¹⁰¹.

Kromě humánního použití je známo, že kyselina acetylsalicylová může na zahrádce podstatně zvýšit toleranci stresu v rostlinách, jako fazolí¹⁰², rajčat¹⁰³, paprik¹⁰⁴, melounu cukrového¹⁰⁵, či růst hlíz u brambor¹⁰⁶ a další. Také zmírňuje poškození chladem a udržuje bioaktivní sloučeniny během skladování granátových jablek¹⁰⁷. Lidová tradice učí, že přidáme-li tabletu aspirinu do vody ve váze, řezané květiny déle vydrží, pokus však ukázal, že to tak asi nebude¹⁰⁸.

Je nabitelné, že je pravdivý bonmot uvádějící, že kdyby někdo vynalezl aspirin dnes, žádná instituce by jeho používání nepovolila. Za vzpomínku stojí i to, že byl „propagován“ jako ženský antikoncepční prostředek pod heslem: „tabletou mezi kolena a držet“; ochrana však bezpečnosti nebyla, jak si umíme představit, stoprocentní.

Stručně řečeno, acetylsalicylová kyselina je staré léčivo se zavedeným používáním při léčbě bolesti, zánětu a horečky a stále více používané pro prevenci kardiiovaskulárních onemocnění. Toto léčivo a další NSAID nyní možná čelí novým terapeutickým použitím, jako je chemoprevence kolorektálního karcinomu, prevence a léčba Alzheimerovy choroby a léčba refluxní ezofagitidy¹⁰⁹.

Přinášíme i tento článek jako další příspěvek do série učebních textů popisujících různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek^{110–112} i proto, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, polopravd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin, a nanejvýš kol aspirinu, dnes šířeny.

LITERATURA

1. https://cs.wikipedia.org/wiki/Vrba_b%C3%AD%C3%A1, staženo 20. 6. 2023.
2. Bryan C. P.: *The Papyrus Ebersi*. Appleton, New York 1931.
3. Jones R.: *Am. J. Med.* 110 (1A), 4S (2001).
4. Čopíková J., Wimmer Z., Lapčík O., Cahliková L., Opletal L., Moravcová J., Drašar P.: *Chem. Listy* 108, 1053 (2014).
5. Dioscorides P.: *De materia medica* (Διοσκουρίδης Π.: *Περὶ ὕλης ἱατρικῆς*). Kilikie mezi roky 50 až 75 n. l.; anglický komentovaný překlad Osbaldeston T. A., Ibis Press, Johannesburg South Africa 2000; <https://archive.org/details/de-materia-medica/page/n5/mode/2up>, staženo 12. 6. 2023.
6. Matthioli P. O.: *Herbář neboli bylinář*. Levné knihy KMa, Praha 2003.
7. Lemery N.: *Traite' universel des drogues simples mises*, str. 745. Chez Laurent d'Houry, Paříž 1714.
8. Osiander J. F., Zelenka J.: *Prostonárodní léky a jednoduché, nelékařnické prostředky proti nemocem*

člověka. Sklad Karla Bellmanna, Praha 1865.

9. Matthioli P. A.: *I Discorsi di M. Pietro Andrea Matthioli sanese medico cesareo nei sei libri di Pedacio Dioscoride Anazarbeo della materia Medica: dal suo stesso autore innanzi la sua morte ricorretti, & in più di mille luoghi aumentati. Con le figure tirate dalle naturali, e vive piante, & animali, in numero molto maggiore, che le altre per avanti stampate...*, kap. 116, str. 144. Nicolò Pezzana, Venezia 1712.
10. Pečírka J.: *Domácí lékař, učení o člověku ve stavu zdravém i chorobném*. Rohlíček a Sievers, Praha 1870.
11. Zkušený hospodář: *Zlatá domácí kniha, nevyčerpatelná pokladnice, domácí věrný rádce hospodářský pro každého, komuž domácnost jest milá*. V komisi kněhupectví Mikuláše a Knappa, Praha 1872.
12. Pečírka J.: *Úplný dobytčí lékař, to jest, Zřetelné poučení o správném léčení všech nemocí koňů, hovězího, skopového a vepřového dobytka, psů i drůbeže s přídatkem Kterak se má pomáhati při těžkém telení, hřezení a bahnění*. Nákladem Mariany ovdovělé Pečírkové, Praha 1874.
13. Pečírka J.: *Domácí lékař, učení o člověku ve stavu zdravém i chorobném*. Rohlíček a Sievers, Praha 1877.
14. Čechetka J.: *Od kolébky do hrobu lidopisné obrázky z Poděbradska*. V. Kotrba, Praha 1900.
15. Chodounský F.: *Několik listů o pivě a pivovarnictví*. F. Chodounský, Praha 1886.
16. Pierpoint W. S.: *Notes Rec. R. Soc. Lond.* 51, 211 (1997).
17. Stone E.: *Philos. Trans. R. Soc. London* 53, 195 (1763).
18. James S.: *Observations on the Bark of a Particular Species of Willow Showing its Superiority to the Peruvian Bark...* Johnson, London 1792.
19. White W.: *Observations and Experiments on the Broad-Leafed Willow Bark Illustrated by Cases*. Hazard, London 1798.
20. Wilkinson G.: *Experiments and Observations on the Cortex Salicis Latifoliae or Broad-Leafed Willow Bark*. Edw Walker, Newcastle 1803.
21. Wilkinson G.: *Medical and Physical Journal* 10, 454 (1803).
22. Wilkinson G.: *Medical and Physical Journal* 11, 400 (1804).
23. Gibbs D.: *Journal of Medical Biography* 2, 233 (1994).
24. Cavazzocca Mazzanti V.: *Archeion* 16, 284 (1934).
25. Fontana F.: *Giornale di Farmacia-Chimica e Scienze Accessorie o sia Raccolta delle scoperte, ritrovati e miglioramenti fatti in Farmacia ed in Chimica* 1, 644 (1824).
26. https://fr.wikipedia.org/wiki/Pierre-Joseph_Leroux, staženo 9. 8. 2023.
27. Chast F.: *Feuill. Biol.* 2017, № 337, 49.
28. Leroux: *Chem. Zentralbl.* 1, 191 (1830).

29. Buchner A.: Chem. Zentralbl. 1, 308 (1830).
30. <https://daten.digital-sammlungen.de/bsb00008405/images/index.html?seite=331>, staženo 14. 8. 2023.
31. Buchner L. A.: Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.) 225, 889 (1887).
32. Leroux: Chem. Zentralbl. 1, 251 (1830); Leroux P. J.: J. Chim. Méd. 6, 341 (1830).
33. Gay-Lussac L. J., Magendie F.: J. Chim. Med. Pharm. Toxicol. 6, 340 (1830).
34. Deutsches Museum, München, Archiv; <http://www.digiporta.net/index.php?id=327493224>, staženo 9. 8. 2023.
35. <https://gw.geneanet.org/gismo?lang=en&n=leroux&oc=0&p=pierre+joseph>, staženo 15. 8. 2023.
36. <https://www.timetoast.com/timelines/the-history-of-the-chemistry-of-medicine>, staženo 9. 8. 2023.
37. <https://www.abebooks.com/first-edition/ann%C3%A9e-lh%C3%B4pital-Lourcine-th%C3%A8se-doctorat-m%C3%A9decine/31421200049/bd>, staženo 9. 8. 2023.
38. Mackowiak P. A.: Clin. Infect. Dis. 31, S5, S154 (2000).
39. Piria R.: *Comptes Rendues de l'Académie des Sciences, Paris* 6, 338 (1838).
40. Piria, Dumas, Etting: Pharm. Centralbl. № 24, 15. Juni 1839, str. 369; Chem. Zentralbl. 10, 369 (1839).
41. Cahours: Pharm. Zentralbl. № 28, 26. Juni 1844, str. 433; Ann. de Ch. et et Phys. Trois. Sér. T. X. str. 327.
42. Gerhardt C.: Chem. Zentralbl. 25, 129 (1854).
43. von Gilm H.: Ann. Chem. Pharm. 112, 180 (1859).
44. Freer P. C.: Chem. Zentralbl. 63, 1018 (1892).
45. Foster G. C.: Ann. Chem. Pharm. 117, 165 (1861).
46. Arthur C.: *Nazis robbed Jew of credit for aspirin*. The Independent, 3. 9. 1999
47. Hegde B. M.: *History of aspirin*, http://www.bmhegde.com/aspirin_history.html, staženo 19. 6. 2023.
48. Desborough M. J. R., Keeling D. M.: Br. J. Haematol. 177, 674 (2017).
49. <https://alchetron.com/Felix-Hoffmann>, staženo 12. 8. 2023.
50. <https://www.myheritage.cz/research/collection-1/myheritage-rodokmeny?itemId=117931801-3-234&action=showRecord&recordTitle=Arthur+Ernst+Eichengr%C3%BCn>, staženo 12. 8. 2023.
51. Eichengrün A.: Pharmazie 4, 582 (1949).
52. <https://www.pamatnik-terezin.cz/vezen/te-eichengrun-2>, staženo 20. 6. 2023.
53. Dreser H: Pfluegers Arch. 76, 306 (1899).
54. Sneader W.: BMJ (Br. Med. J.) 321, 1591 (2000).
55. Pagenstecher J. S. F.: *Über das destillierte Wasser und Öl der Blüten von Spiraea Ulmaria, v knize: Repertorium für die Pharmacie*, 49, 337 (1834).
56. Löwig C., Weidmann S.: Beiträge zur organischen Chemie Annalen der Physik und Chemie 46, 45 (1839).
57. Maňhová M.: *Tužební jilmový (Filipendula ulmaria)*. Bylinkový ráj; <https://bylinkovyraj.net/tuzebnik-jilmovy/>, staženo 9. 8. 2023.
58. Votoček E.: Živa 15, 260 (1905).
59. Hoffmann F.: US644077 A (1900).
60. Lebl. M.: Chem. Listy 117, 485 (2023).
61. Anonym: Časopis českého lékařnictva 18, 228 (1899).
62. Šedivý E.: Časopis českého lékařnictva 28, 268 (1909).
63. Krauz C.: *Technologie lučebnin organických, První díl. Lučebniny řady mastné*, str. 1b (přední přídeští). ČSCH, Praha 1926.
64. Wheatley P. J.: J. Chem. Soc. 1964, 6036.
65. Vishweshwar P., McMahon J. A., Oliveira M., Peterson M. L., Zaworotko M. J.: J. Am. Chem. Soc. 127, 16802 (2005).
66. Maruyama M., Yoshikawa H. Y., Takano K., Yoshimura M., Mori Y.: J. Cryst. Growth 602, 126990 (2023).
67. Jurášek M., Kratochvíl B., Kohout M., Švec F., Drašar P.: Chem. Listy 117, 671 (2023).
68. Almarsson O., McMahon J., Peddy V., Peterson M., Zaworotko M. J.: US 0331285 A1 (2010).
69. First E. R., Patel A. B., Schmitz G., Petaway-Hickson S., Tong H.-H.: EP2429502A1 (2010).
70. Voelker M., Hammer M.: Inflammopharmacology 20, 225 (2012).
71. Cooper S. A., Voelker M.: Inflammopharmacology 20, 233 (2012).
72. https://prehledy.sukl.cz/prehled_leciv.html#/, staženo 22. 6. 2023.
73. Vane J. R.: Nature (London), New Biol. 231, 232 (1971).
74. Awtry E. H., Loscalzo J.: Circulation 101, 1206 (2000).
75. Phipps D.: LCGC Europe 34, 142 (2021).
76. Keimowitz R. M., Pulvermacher G., Mayo G., Fitzgerald D. J.: Circulation 88, 556 (1993).
77. <https://www.pdr.net/drug-summary/Bayer-Low-Dose-Aspirin-Regimen-aspirin-3799>, staženo 2. 7. 2023.
78. Yeoh K. G., Kang J. Y., Yap I., Guan R., Tan C. C., Wee A., Teng C. H.: Dig. Dis. Sci. 40, 580 (1995).
79. Muniappan M., Sundararaj T.: J. Ethnopharmacol. 88, 161 (2003).
80. Anonym: Godasal, Příbalový leták. SÚKL Praha, reg. No. 16/153/99-C.
81. Florensa D., Mateo J., Solsona F., Galvan L., Mesas M., Pinol R., Espinosa-Leal L., Godoy P.: Ann. Epidemiol. 84, 60 (2023).
82. Langley R. E.: Ecancermedicallscience 7, 297 (2013).
83. RECOVERY Collaborative Group (Horby P. W., Landray M. J. a spoluautoři): Lancet 399, 143 (2022).
84. Kupferwasser L. I., Yeaman M. R., Shapiro S. M., Nast C. C., Sullam P. M., Filler S. G., Bayer A. S.: Circulation 99, 2791 (1999).
85. Lampl C., Voelker M., Steiner T. J.: Headache 52, 48 (2012).

86. Lushchak, O.; Piskovatska, V.; Strilbytska O., Kindrat I., Stefanyshyn N., Koliada A., Bubalo V., Storey K. B., Vaiserman A., v knize *Reviews on New Drug Targets in Age-Related Disorders II*, 1286, str. 145. Springer, Cham 2021.
87. Nazir S., Naqvi S. N. U. H., Ahmed M., Arain A. H., Nazir N.: *Int. J. Morphol.* 29, 278 (2011).
88. De Weck A. L. a 18 spoluautorů: *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* 19, 355 (2009).
89. Phillips K.: Guardian Recovery Network; <https://www.guardianrecoverynetwork.com/detox-and-recovery-for-alcohol-addiction/mixing-aspirin-and-alcohol/>, staženo 22. 6. 2023.
90. Kechagias S., Jönsson K. A., Norlander B., Carlsson B., Jones A. W.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 53, 241 (1997).
91. Gentry R. T., Baraona E., Amir I., Roine R., Chayes Z. W., Sharma R., Lieber C. S.: *Life Sci.* 65, 2505 (1999).
92. Roine R., Gentry R. T., Hernández-Munóz R., Baraona E., Lieber C. S.: *JAMA* 264, 2406 (1990).
93. <https://lekarske.slovníky.cz/lexikon-pojem/alka-seltzer>, staženo 18. 7. 2023.
94. Cohen M. M., Yeung R., Kilam S., Wang H. R.: *Dig. Dis. Sci.* 33, 513 (1988).
95. Langman M. J. S.: *Gut* 11, 627 (1970).
96. Moneret-Vautrin D. A., Wayoff M., Bonne C.: *Annales d'oto-laryngologie et de chirurgie cervico faciale: bulletin de la Societe d'oto-laryngologie des hopitaux de Paris* 102, 357 (1985).
97. <https://www.getreliefresponsiblyprofessional.com/aspirin-contraindications-interactions>, staženo 21. 6. 2023.
98. Anonym: *Časopis českého lékařnictva* 28, 227 (1909).
99. Zhang Q. X., Ding Q., Yan, S. Y., Yue Q. Y.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 78, 1521 (2022).
100. Temple A. R.: *Arch. Intern. Med.* 141, 364 (1981).
101. ACD/Labs: *Percepta*, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, release 2022.2.2.
102. Soliman M. H., Alayafi A. A. M., El Kelish A. A., Abu-Elsaoud A. M.: *Bot. Stud.* 59, 1 (2018).
103. Senaratna T., Touchell D., Bunn E., Dixon K.: *Plant Growth Regul.* 30, 157 (2000).
104. Korkmaz A.: *HortScience* 40, 197 (2005).
105. Korkmaz A., Uzunlu M., Demirkiran A. R.: *Acta Physiol. Plant.* 29, 503 (2007).
106. Lopez-Delgado H., Scott I. M.: *J. Plant Physiol.* 151, 74 (1997).
107. Sayyari M., Castillo S., Valero D., Diaz-Mula H. M., Serrano M.: *Postharvest Biol. Technol.* 60, 136 (2011).
108. <https://www.ftd.com/blog/mythbusters-keep-flowers-fresh-longer>, staženo 13. 8. 2023.
109. Vainio H., Morgan C.: *Pharmacol. Toxicol.* (Oxford, U. K.) 81, 151 (1997).
110. Jurášek M., Stárka L., Drašar P.: *Chem. Listy* 116, 115 (2022).
111. Jurášek M., Drašar P.: *Chem. Listy* 117, 278 (2023).
112. Jurášek M., Drašar P.: *Chem. Listy* 116, 519 (2022).

M. Jurášek^a, L. Opletal^b, and P. Drašar^a (^a *Department of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague,* ^b *Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové, Czech Republic*): **Strong Willow Bark Brew**

The story of aspirin is exciting and complicated. We tried to decipher the role of the main characters, as well as a wide field of pharmacological roles of acetylsalicylic acid, a super-drug, which would not be approved by responsible institutions today but which is still one of the most used medicines on the Earth, as well as in the space (it was used by the astronauts in the Apollo project). Original literature sources were used as much as possible to clean up some misinformation around the topic. The authors are aware that Aspirin is a trademarked name but it has become "popular" in common human speech.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: history, aspirin, acylpyrin, acetylsalicylic acid, salicin, E. Stone, P.-J. Leroux, J. A. Buchner, R. Piria, C. F. Gerhardt, A. E. Eichengrün, F. Hoffman, H. Drescher, J. R. Vane



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoli média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

STANOVENÍ VYBRANÝCH BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V LEVANDULI
LÉKAŘSKÉ VYPĚSTOVANÉ V ČESKÉ REPUBLICEIVETA ŠÍSTKOVÁ^a, VOJTĚCH KRUŽÍK^a, IVETA HORSÁKOVÁ^a, HELENA NEUMANNOVÁ^b
a HELENA ČÍŽKOVÁ^a^a Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 160 00 Praha 6, ^b Tři věže s. r. o.,
Lišnice, Česká republika
iveta.sistkova@vscht.cz

Došlo 20.10.23, přijato 13.3.24.

Levandule jako rostlina a levandulová silice mají široké spektrum biologických účinků, levandule se v kosmetice a léčivých přípravcích využívá již od dob starého Řecka a Říma. V dnešní době se na trhu vyskytuje nepřeberná škála produktů obsahujících levanduli, ať už jako takovou (levandulový čaj nebo sušenky či jiné pochutiny s květy levandule), případně obsahující levandulovou silici či vodné extrakty levandule (kosmetika, drogerie, potraviny či farmaceutické přípravky). Tato práce se zaměřuje na zjištění obsahu silice, zastoupení těkavých látek a stanovení celkových fenolů a flavonoidů u vzorků levandule lékařské z Levandulového údolí a porovnání výsledků se složením levandulových květů prodávaných jako bylinné čaje v tržní síti České republiky.

Klíčová slova: levandule lékařská, *Lavandula angustifolia*, silice, fenoly, flavonoidy

Úvod

Levandulová silice (*Lavandulae etheroleum*) je definována Českým lékopisem jako silice získaná z kvetoucích vrcholků druhu *Lavandula angustifolia* Mill. (syn. *Lavandula officinalis* Chaix) destilací s vodní parou, přičemž by sušený květ levandule měl obsahovat nejméně 13 ml silice na kg (cit.¹). Kromě destilace s vodní parou lze k získání silice využít i superkritickou extrakci CO₂ či extrakci do hexanu². Vedlejším produktem destilace silice je vznik hydrolátu. Dominantními látkami levandulové silice (celkem přes 300 látek) jsou linalool a linalyl-acetát, látky s typickou levandulovou vůní, jejichž obsah a vzájemný poměr určuje kvalitu silice. Obě látky se v autentické levandulové silici vyskytují převážně jako (*R*)-enantiomery, obsah (*S*)-linaloolu a (*S*)-linalyl-acetátu by neměl překročit 12 % resp. 1 % (cit.¹). Mezi další látky mající pozitivní vliv na výslednou vůni silice patří borneol, α-terpineol, lavandulyl-acetát, karyofylen a linalool oxid. Naproti tomu zvýšený obsah ocimenu, 1,8-cineolu, kafru a terpinen-4-olu má negativní vliv na výslednou vůni silice³.

Porovnání procentuálního zastoupení vybraných těkavých látek v levandulové silici různého původu^{5,6} s požadavky Českého lékopisu¹ a mezinárodní normy ISO 3515:2022 (cit.⁴), která definuje požadavky pro levandulovou silici (*Lavandula angustifolia* Mill.) uvádí tab. I.

Mezi biologicky aktivní látky obsažené v levanduli lékařské patří vedle dalších látek také fenoly, resp. jejich hlavní podskupina flavonoidy, které mají antioxidační

účinky. Stanovený obsah fenolů a flavonoidů mimo jiného (pěstovaná odrůda, klimatické a geografické podmínky, doba sklizně) závisí na metodách a podmínkách extrakce. Běžně používanými metodami extrakce jsou macerace, odvar, Soxhletova extrakce, hydrodestilace či moderní postupy, jako je ultrazvuková (UAE), mikrovlnná, tlaková kapalinová či zrychlená (akcelerovaná) extrakce, při kterých jsou využívány různé druhy extrakčních rozpouštědel (voda, methanol či ethanol (o různé koncentraci), petrol-ether aj.), lze využít i superkritickou fluidní extrakci (CO₂, 1,1,1,2-tetrafluorethan)^{7,8}. Celkový obsah fenolů se vyjadřuje nejčastěji jako obsah kyseliny gallové v mg na gram vzorku (gallic acid equivalents, GAE), obsah flavonoidů pak jako obsah katechinu v mg na gram vzorku (catechin equivalents, CA). Pro stanovení celkového obsahu flavonoidů je jednou z nejčastěji používaných metod spektrofotometrické stanovení založené na tvorbě barevných komplexů s hliníkem. V literatuře se nejčastěji vyskytují dva postupy stanovení (s a bez NaNO₂) s vyjádřením výsledku pro několik sloučenin z různých tříd flavonoidů. Postupy s NaNO₂, který byl použit i v této práci, jsou specifické pro rutin, luteolin a katechiny⁹. Při porovnání extraktů levandule lékařské získaných macerací (50% ethanol, 30 min), odvarem (voda, var, 30 min) a ultrazvukovou extrakcí (UAE, 50% ethanol, 1 h celkem) byly zjištěny nejvyšší obsahy celkových fenolů u UAE 23–33 mg GAE/g, následovaný macerací (17–28 mg GAE/g) a odvarem (15–21 mg GAE/g). Stejně pořadí účinnosti bylo získáno i u stanovení celkového obsahu flavonoidů (14–24 mg

Tabulka I

Porovnání procentuálního zastoupení vybraných těkavých látek dle Českého lékopisu¹ levandulové silice z různých literárních zdrojů

Sloučenina	Český lékopis ¹	ISO 3515:2002 (cit. ²)	Evropa ^a (cit. ⁵)	Mimo Evropu ^b (cit. ⁵)	Ukrajina ^c (cit. ⁶)
Oktan-3-on, %	0,1–5,0	≤ 3,0	nd–1,6	nd–0,4	0,0–1,0
D-Limonen, %	≤ 1,0	≤ 1,0	0,3–0,9	nd–3,1	0,0–0,6
1,8-Cineol, %	≤ 2,5	≤ 1,3	< 0,05–8,4	nd–3,1	0,0–1,1
Linalool, %	20,0–45,0	20,0–43,0	23,1–36,2	23,6–33,3	11,4–46,7
Kafr, %	≤ 1,2	≤ 1,5	0,5–6,9	nd–9,8	0,1–0,8
Lavandulol, %	≥ 0,1	≤ 3,0	nd–1,6	nd–1,2	0,0–7,8
Terpinen-4-ol, %	0,1–8,0	≤ 8,0	nd–16,1	nd–14,9	1,2–18,7
α-Terpineol, %	≤ 2,0	≤ 2,0	0,3–5,0	nd–6,3	0,5–4,5
Linalyl-acetát, %	25,0–47,0	25,0–47,0	14,2–39,9	19,7–47,6	7,4–44,2
Lavandulyl-acetát, %	≥ 0,2	≤ 8,0	nd–4,4	nd–6,5	0,2–12,3

^a 9 vzorků, ^b 8 vzorků, ^c 13 vzorků, nd – nedetekováno

CA/g pro UAE; 10–20 mg CA/g pro maceraci a 8–16 mg CA/g pro odvar⁷.

Tato práce se zaměřuje na zjištění obsahu silice, zastoupení těkavých látek a stanovení celkových fenolů a flavonoidů u levandule lékařské, odrůda Munstead pocházející z Levandulového údolí u obce Zdice – Chodouň (Česká republika) a porovnání výsledků se vzorky levandule zakoupené v tržní síti.

Experimentální část

Vzorky

Soubor analyzovaných vzorků shrnuje tab. II. U vzorků květy se stonky (tj. květy s květonosnými lodyhami) byla průměrná hmotnost bilance květu a květonosné lodyhy 55 : 45. Obsah vody ve vzorcích sušených květů a květu se stonky se pohyboval v rozmezí 8–10 %.

Destilace silice s vodní parou

Objem silice ve vzorcích byl stanoven destilací s vodní parou za podmínek uvedených v Českém lékopise¹, výsledek byl přepočítán na kg vzorku. Stanovení silice bylo provedeno v materiálu, jak byl dodán, tedy bez vysušení, a to z důvodu porovnání obsahu silice mezi různými matricemi.

Stanovení těkavých látek

Získané vzorky silice byly analyzovány plynovou chromatografií s hmotnostním detektorem (GC/MS). Pro identifikaci těkavých látek byly použity standardy látek (D-limonen, linalool, terpinen-4-ol, α-terpineol a linalyl-acetát), ostatní sloučeniny byly identifikovány na základě

srovnání spekter s NIST knihovnou hmotnostních spekter (NIST 14, cit.¹⁰) a pomocí Kovatsových retenčních indexů RI. Vzhledem k podobné retenční charakteristice látek D-limonenu (RI=1027) a 1,8-cineolu (RI=1032) na použité koloně (DB-5) se nepodařilo tyto dvě látky separovat, z tohoto důvodu jsou výsledky prezentovány sumou těchto látek. Každý ze vzorků silice byl proměřen 2krát. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentuální zastoupení látky ve vzorku.

Příprava extraktů pomocí ultrazvuku

Homogenizovaný vzorek byl extrahován v roztoku ethanolu pomocí ultrazvuku dle podmínek metody dle⁷ (UAE, 50% ethanol, 1 h celkem). Všechny vzorky byly připraveny v paralelním stanovení. Získané extrakty se do doby analýzy uchovávaly při –18 °C.

Stanovení celkových fenolů

Ke stanovení celkového obsahu fenolů (TPC, Total Phenolic Content) byla použita modifikovaná metoda dle⁷. Celkové fenoly v extraktu byly stanoveny spektrofotometricky po reakci s Folin-Ciocalteu činidlem a Na₂CO₃ při vlnové délce 765 nm. Všechny vzorky byly měřeny v paralelním stanovení a výsledky vyjádřeny jako mg kyseliny gallové na gram vzorku na základě získané kalibrační křivky $y = 0,0011x - 0,0085$, $R^2 = 0,994$ (mg kyseliny gallové/ g vzorku).

Stanovení celkových flavonoidů

Ke stanovení celkového obsahu flavonoidů (TFC, Total Flavonoid Content) byla použita modifikovaná metoda dle⁷. K extraktu byl přidán roztok NaNO₂ a AlCl₃ a po 5 min byl přidán 1M NaOH. Flavonoidy v extraktu

Tabulka II
Seznam analyzovaných vzorků

Č.	Označení	Popis
1.	Květy č. 1	<i>Lavandula angustifolia</i> odrůda Munstead, Levandulové údolí, sklizeň 2022, výrobce: Tři věže s. r. o., země původu: ČR
2.	Květy č. 2	Vzorek z tržní sítě – levandulový květ (<i>Flos lavandulae</i>), bylinný čaj, značka: čaj bylináře, výrobce: Mediate, s. r. o., DMT 10/2024, země původu: neznámá
3.	Květy č. 3	Vzorek z tržní sítě – levandule květ, značka: Grešík, výrobce: Natura s. r. o., DMT 11/2024, původ: EU a mimo EU
4.	Květy č. 4	Vzorek z tržní sítě – levandule květ (<i>Lavandula angustifolia</i>), značka: Sonnentor, výrobce: Sonnentor s. r. o., DMT 11/2022, země původu: Albánie
5.	Květy se stonky č. 1	<i>Lavandula angustifolia</i> odrůda Munstead, Levandulové údolí, sklizeň 2021, výrobce: Tři věže s. r. o., země původu: ČR
6.	Květy se stonky č. 2	<i>Lavandula angustifolia</i> odrůda Munstead, Levandulové údolí, 1. sklizeň 2022, výrobce: Tři věže s. r. o., země původu: ČR
7.	Květy se stonky č. 3	<i>Lavandula angustifolia</i> odrůda Munstead, Levandulové údolí, 2. sklizeň 2022, výrobce: Tři věže s. r. o., země původu: ČR
8.	Stonky	<i>Lavandula angustifolia</i> odrůda Munstead, Levandulové údolí, 1. sklizeň 2022, výrobce: Tři věže s. r. o., země původu: ČR
9.	Produkt č. 1	100% BIO esenciální olej z Levandule Chodouňské, výrobce: Tři věže s. r. o., země původu: ČR
10.	Produkt č. 2	BIO levandulový hydrolát z Levandule Chodouňské, výrobce: Tři věže s. r. o., DMT 08/2023, země původu: ČR
11.	Produkt č. 3	BIO esenciální olej z Levandule Chodouňské (10ml), výrobce: Tři věže s. r. o., země původu: ČR
12.	Produkt č. 4	100% esenciální olej z levandule, země původu: Francie

Pozn.: Termín „esenciální olej“ je obchodní název převzatý z doslovného anglického překladu *essencial oil*, a jedná se tedy o silici levandule lékařské.

byly následně stanoveny spektrofotometricky při vlnové délce 510 nm. Všechny vzorky byly měřeny v paralelním stanovení a výsledky vyjádřeny jako mg katechinu na gram vzorku na základě získané kalibrační křivky $y = 0,0016x + 0,0014$, $R^2 = 1,000$ (mg katechinu/ g vzorku).

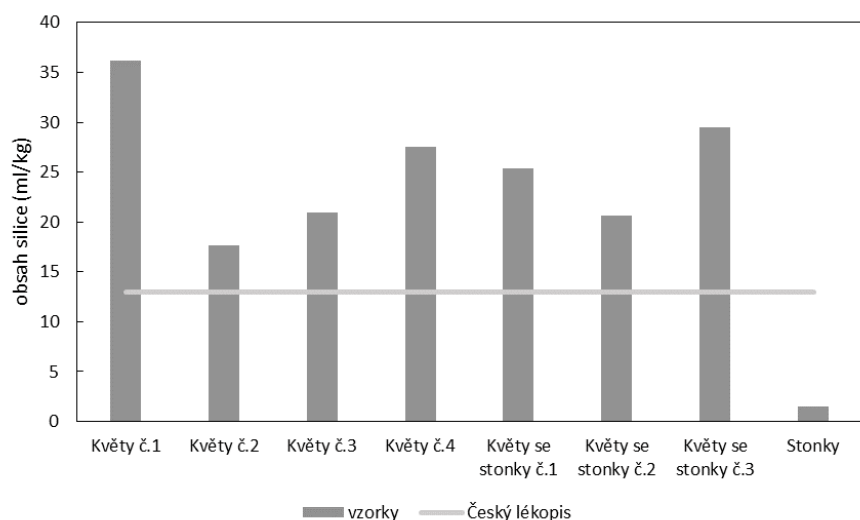
Výsledky a diskuse

Silice ve vzorcích byla stanovena dle Českého lékopisu po destilaci s vodní parou objemově, výsledky znázorňuje obr. 1. Jak je vidět, všechny analyzované vzorky květů splňují požadavek Českého lékopisu na minimální obsah silice (13 ml/kg bezvodé drogy¹, limit při zohlednění 10% vlhkosti vzorků je 11,7 ml/kg vzorku). Stejně tak splňují požadovaný minimální obsah silice vzorky květů se stonky; samotné stonky levandule jsou na silici chudé (pouze 1,5 ml/kg). Co se týká výrobků z Levandulového údolí: dle předpokladů produkt č. 1 (100% BIO esenciální olej z levandule Chodouňské) obsahuje skoro 100 % silice (960 ml/litr výrobku), obdobné výsledky byly zjištěny i u produktu č. 3 a č. 4. Oproti tomu produkt č. 2 – hydrolát, který vzniká jako vedlejší produkt při získávání silice,

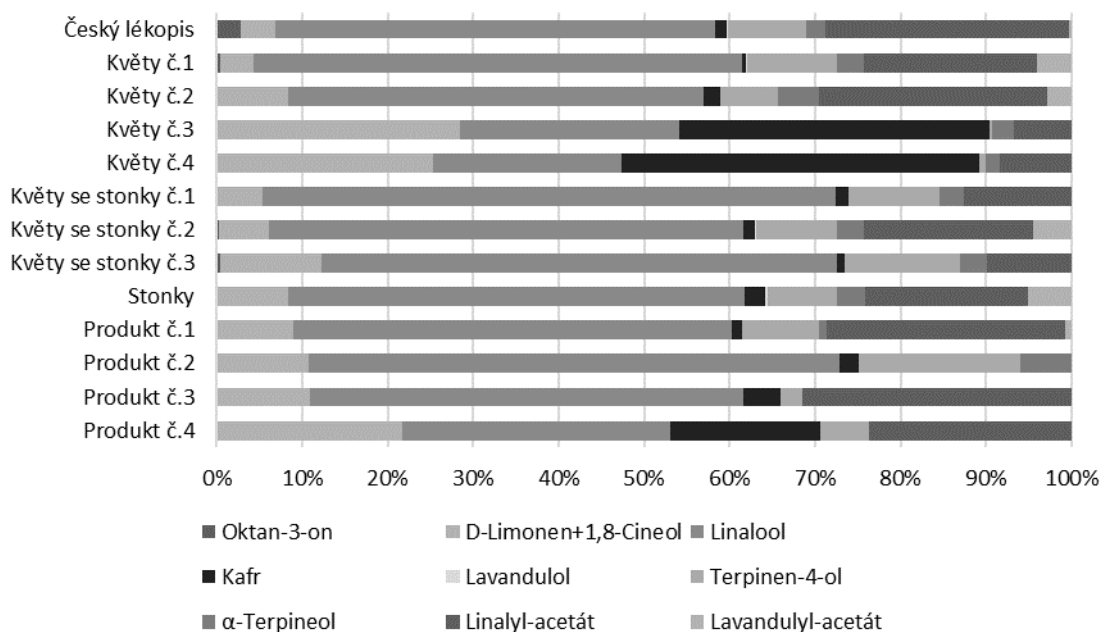
obsahuje pouze zanedbatelné množství (2 ml/litr výrobku) (není uvedeno na obr. 1).

Získané vzorky silic byly analyzovány metodou GC/MS pro získání profilu těkavých látek a následně bylo vypočítáno jejich relativní zastoupení. Nejvíce těkavých látek obsahuje z rostlinné suroviny květ se stonkem (okolo 40 těkavých látek), nejméně pak samotný stonek (do 30 těkavých látek). Z výrobků z Levandulového údolí (ale i v porovnání se surovinou) má nejbohatší zastoupení těkavých látek produkt č. 1 (100% BIO esenciální olej z levandule Chodouňské, přes 55), jejichž profil je výrazně odlišný od ostatních analyzovaných vzorků.

Český lékopis definuje požadované relativní zastoupení u 10 těkavých látek (viz tab. I), porovnání relativního zastoupení těchto látek u analyzovaných vzorků silic je uvedeno na obr. 2. Jak je patrné, vzorky silic z květů č. 1 a č. 2 svým relativním zastoupením odpovídají požadavku Českého lékopisu. Oproti tomu vzorky z květů č. 3 a č. 4 mají vysoký obsah kafru (36,4 % a 41,9 %) a sumy D-limonenu + 1,8-cineolu (28,4 % a 25,3 %) na úkor nižšího obsahu linaloolu a nesplňují v tomto směru požadavky Českého lékopisu (kafr <1,2 %, D-limonen <1,0 % a 1,8-cineol <2,5 %). Z tohoto lze usoudit, že se u těchto



Obr. 1. Obsah silice v analyzovaných vzorcích levandule

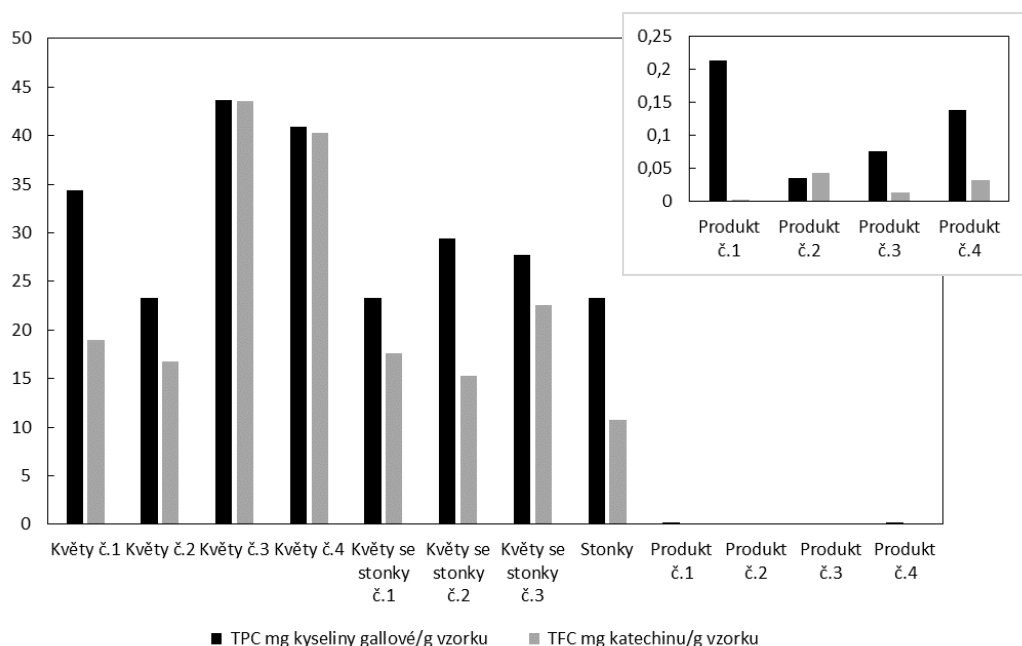


Obr. 2. Porovnání relativního zastoupení těkavých látek v analyzovaných vzorcích silic

dvou vzorků nejedná o levanduli lékařskou, ačkoliv to vzorek květy č. 4 na obalu deklaruje. Původ tohoto vzorku je z Albánie, což by mohlo být vysvětlením rozdílného zastoupení těkavých látek, protože výsledky nejsou v rozporu se zjištěním dalších autorů (viz tab. I). Evidentně zde hraje velkou roli odrůda, místo a podmínky pěstování a způsob izolace těkavé frakce. Jak uvádí cit.⁶, obsahové zastoupení látek se liší v závislosti na druhu levandu-

le lékařské, ale i meziročně v rámci pěstované odrůdy. Z tohoto důvodu je obtížné porovnávat různé roční produkce i typy odrůd levandule mezi sebou.

U výrobků esenciálních olejů z Levandulového údolí (produkt č. 1 a č. 3) je profil těkavých látek ze získané silice téměř totožný s profilem sušených bylin (květy, příp. květy se stonky). Naproti tomu produkt č. 2 – levandulový hydrolát – má rozdílný profil. V tomto produktu se



Obr. 3. Porovnání obsahu fenolů (TPC) a flavonoidů (TFC) u analyzovaných vzorků

nevyskytuje linalyl-acetát, nejvíce zastoupená látka levandulové silice, což je v souladu s literaturou³.

Mezi významné obsahové složky levandule patří fenoly, konkrétně flavonoidy, jejichž obsah se pohyboval od 23 mg TPC/g resp. 10 mg TFC/g u stonků do 43 mg TPC i TFC/g u květů (viz obr. 3). Tyto látky však z důvodu vysoké polarit a netěkavého charakteru neprecházejí během destilace s vodní parou do silice ani hydrolátu. Zjištěné obsahy fenolů a flavonoidů ve vzorcích levandule jsou ve shodě s dostupnou literaturou⁷.

Závěr

Cílem této práce bylo zjistit, zda se kvalita levandule lékařská pěstované v České republice liší od hlavních producentů, jako je Francie či země z Balkánského poloostrova (Bulharsko, Albánie) porovnáním s literaturou a proměřením omezeného množství vzorků dostupných z tržní sítě (viz tab. II). Vzhledem k tomu, že kosmetický průmysl nezpracovává jen čistý květ, jako tomu je ve farmaceutickém průmyslu, byla zároveň provedena bilance sledovaných biologicky aktivních látek v dalších částech rostliny (květy se stonky, stonky).

Výsledky ukazují, že majoritním zdrojem silice jsou podle očekávání květy (až 37 ml/kg), oproti tomu stonky obsahují pouze 1,5 ml silice/kg. Všechny analyzované vzorky květů levandule (květ č. 1–4) splňují požadavky Českého lékopisu na její minimální obsah, ale navzájem se liší až dvojnásobně. Stejně tak květy s květonosnými lody-

hami (květy se stonky), využívané v kosmetickém průmyslu, obsahují více jak 20 ml silice/kg s obdobným profilem těkavých látek jako silice z květů a z ekonomického hlediska je jejich využití v kosmetickém průmyslu smysluplné. Výskyt a relativní zastoupení těkavých látek silice závisí nejen na způsobu získávání silice a metodě stanovení, ale i na pěstované odrůdě, klimatických a geologických podmínkách^{3,5,6}. Přesto lze s velkou pravděpodobností tvrdit, že v případě vzorků květů č. 3 a č. 4 se nejedná o levanduli lékařskou, ale o jiný druh levandule, a to zejména pro vysoké relativní zastoupení kafru na úkor linaloolu a linalyl-acetátu. Tyto vzorky mají zároveň vyšší obsah fenolů a flavonoidů. Vzhledem k tomu, že výrobce na obale deklaruje, že se jedná o levandulový květ, vzorek květy č. 4 pak výslovně uvádí z *Lavandula angustifolia*, je zde riziko klamání spotřebitele ohledně botanického původu výrobku a tím spojených léčivých a aromatických vlastností výrobku. Stejně tak v případě vzorku francouzské silice (produkt č. 4) se s největší pravděpodobností nejedná o levanduli lékařskou. O jaké druhy levandule se jedná však nelze s určitostí říci.

LITERATURA

1. Český lékopis 2023. Grada, Praha 2023.
2. Wells R., Truong F., Adal A. M., Sarker L. S., Mahmoud S. S.: Nat. Prod. Commun. 13, 1403 (2018).
3. Prusinowska R., Śmigielski K.: Herba Pol. 60, 56 (2014).

4. ISO Standard 3515:2002: *Oil of lavender (Lavandula angustifolia Mill.)*.
5. Lawrence B. M.: *Perfum. Flavor.* 40, 42 (2015).
6. Pokajewicz K., Bialoń M., Svydenko L., Fedin R., Hudz N.: *Molecules* 26, 5681 (2021).
7. Dobros N., Zawada K., Paradowska K.: *Antioxidants* 11, 711 (2022).
8. Radulescu C. a 10 spoluautorů: *Anal. Lett.* 50, 2839 (2017).
9. Pekal A., Pyrzynska K.: *Food Anal. Methods* 7, 1776 (2014).
10. <https://webbook.nist.gov/chemistry/>, staženo 10. 10. 2023.

I. Šístková^a, V. Kružík^a, I. Horsáková^a, H. Neumannová^b, and H. Čížková^a (^a*Department of Food Preservation, University of Chemistry and Technology Prague, Prague, Czech Republic,* ^b*Tři věže s. r. o., Lišnice, Czech Republic*) **Determination of Selected Biologically Active Substances on Lavender Grown in the Czech Republic**

Lavender as a herb and the lavender essential oil have a wide range of biological effects. They have been used in cosmetics and medicinal products since the times of ancient Greece and Rome. Nowadays, there is a wide range of products containing lavender on the market, either as such (lavender tea or biscuits or other snacks with lavender flowers) or containing lavender essential oil or aqueous solutions of lavender (cosmetics, drugstore goods, food or pharmaceutical preparations). This work focuses on the determination of the essential oil content, the representation of volatile substances and the determination of total phenols and flavonoids in samples of medicinal lavender from the Levandulové údolí and bought in the Czech shops.

Keywords: lavender, *Lavandula angustifolia*, essential oil, phenolics, flavonoids



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoli média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

NUKLEOSIDOVÁ CHEMIE V ÚOCHB – OHLÉDNUTÍ DO HISTORIE

Článek je věnován 70. výročí založení Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR v Praze.

MARCELA KREČMEROVÁ

Ústav organické chemie a biochemie AVČR, v.v.i., Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, Česká republika
marcela.krecmerova@uochb.cas.cz

Došlo 26.2.24, přijato 27.3.24.

Nukleosidová chemie se v ÚOCHB rozvíjela od roku 1957 díky předvídavosti jeho prvního ředitele Františka Šorma. Tento nový obor, z počátku cílený hlavně na syntézu oligonukleotidů, si brzy vydobyl skvělou reputaci. ÚOCHB byl v té době jedním z pouhých čtyř pracovišť na světě úspěšných v syntéze oligonukleotidů. Prvními úspěchy v syntézách chemicky modifikovaných nukleosidů byly syntézy 6-azauridinu jako antileukemika, 6-azauridin-triacetátu jakožto léčiva proti lupénce (Riboazauracil) a zejména 5-azacytosinových nukleosidů 5-azacytidinu a 2'-deoxy-5-azacytidinu (decitabinu), které byly syntetizovány na počátku 60. let Aloisem Pískalou. Obě sloučeniny jsou antileukemické látky fungující na epigenetickém principu jako inhibitory DNA methylací. V současné době se klinicky používají k léčbě myelodysplastických syndromů a dalších hematologických malignit a jsou prodávány pod obchodními názvy Vidaza® (5-azacytidin, schválen 2004) a Dacogen® (5-aza-2'-deoxycytidin, schválen 2006). Významné syntetické úspěchy jsou spjaty s osobností Antonína Holého včetně syntéz L-nukleosidů a acyklických nukleosidových analogů, tj. látek, v nichž je cukerný furanosový kruh nahrazen (poly)hydroxylovaným acyklickým řetězcem. Mnohé byly shledány účinnými antiviroty a jeden z nich, 9-(S)-[(2,3-dihydroxypropyl)]adenin, dokonce vstoupil do klinické praxe jako antiherpetické léčivo Duvira gel. Skutečným milníkem se stal vývoj acyklických nukleosidfosfonátů (ANP), poprvé publikovaných Holým a De Clercqem v roce 1986. V průběhu příštích tří dekad bylo identifikováno ohromné množství biologicky aktivních ANP jako antiviroty, cytostatik, imunomodulátorů a antiparazitik. Tři z nich se dostaly do klinické praxe jako úspěšná antivirotika: cidofovir pro léčbu cytomegalovirové retinitidy u pacientů s AIDS, tenofovir pro léčbu a prevenci HIV a později schválen též pro léčbu hepatitidy B a adefovir taktéž pro léčbu hepatitidy B. Tenofovir je ve formě proléčiv nyní nejvíce používán jako součást kombinovaných anti-HIV preparátů obsahujících v jedné tabletě několik různých anti-HIV léčiv současně a stal se nejúspěšnějším a nejpoužívanějším anti-HIV léčivem vůbec.

Klíčová slova: 6-azauracil, 5-azacytidin, decitabin, antimetabolity, L-nukleosidy, acyklické analogy, DHPA, acyklické nukleosidfosfonáty, cidofovir, adefovir, antivirotika, HIV, tenofovir, kombinovaná antiretrovirová terapie, antiparazitika

V historii vědy zůstane rok 1953 už navždy spojen s jedním z nejvýznamnějších objevů 20. století. Stalo se tak v Cavendishově laboratoři v Cambridgi a onou událostí bylo vyřešení struktury DNA jako dvojité šroubovice s antiparalelní orientací obou řetězců, kde se párují adenin s thyminem a guanin s cytosinem pomocí vodíkových vazeb. Revoluční objev, který položil základy budoucí molekulární biologie a genetiky, byl odhalen světu 25. dubna 1953 v časopise Nature¹. Článek dlouhý jen něco přes jednu stránku začínající poněkud nesmělým úvodem „Rádi bychom navrhli strukturální podobu soli deoxyribonukleové kyseliny (D.N.A). Vyznačuje se novými rysy, které mají značnou biologickou zajímavost...“ záhy ovlivnil směřování vědeckého výzkumu chemických a biochemických laboratoří po celém světě.

V pražských Dejvicích byl ve stejném roce založen Ústav organické chemie a biochemie ČSAV v čele s jeho

prvním ředitelem Františkem Šormem. Činnost ústavu se zaměřovala hlavně na chemii přírodních látek (terpenů a rostlinných léčiv), steroidů, klasickou organickou syntézou (syntézy antibiotik, azulenů, aminokyselin a peptidů), aplikaci fyzikálních metod (IČ a UV spektroskopie), chemii a biochemii bílkovin a enzymologii. František Šorm byl člověk s mimořádnou vědeckou intuicí a brzy dokázal rozpoznat nezbytnost výzkumu nukleových kyselin pro další rozvoj biologických a chemických věd. Proto již čtyři roky po založení ústavu, v roce 1957, založil v ÚOCHB oddělení chemie nukleových kyselin, jehož vedoucím se stal Dr. Jiří Smrt. Jedním z hlavních témat nového oddělení byla syntéza oligonukleotidů.

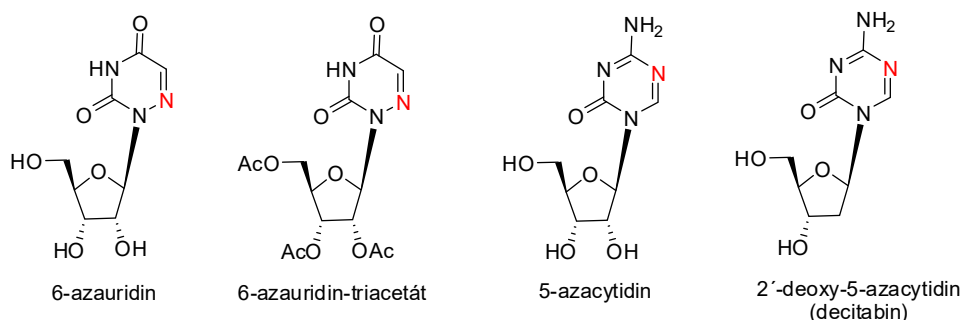
První oligonukleotidová práce autorů Smrta a Šorma z roku 1961 popisuje syntézu dimeru 6-azaU-p-U kondenzační reakcí chráněného 6-azauridinu a uridin-3'-fosfátu s DCC a následným odchráněním². Požadavky molekulár-

ních biologů na syntetické oligonukleotidy byly hnací silou k rychlému vývoji nových efektivnějších metod syntézy a pražská skupina si zde vydobyla velmi brzy prestižní pozici. Na počátku 60. let patřil ÚOCHB k pouhým čtyřem pracovištím na světě úspěšných v syntéze oligonukleotidů. Původní metoda syntézy oligonukleotidů v roztoku fosfodiesterovou metodou (Khorana) byla postupně nahrazována nejprve účinnější fosfotriesterovou metodou (Letsinger), poté metodou H-fosfonátovou (Todd, Froehler, Matteucci) a fosfitovou (Letsinger), která vytvořila základ fosforamiditové metody (Caruthers), která je v současnosti jedinou prakticky používanou metodou syntézy oligonukleotidů na pevné fázi³. Také zde jsme dokázali držet krok se západními pracovišti. Díky technické zdatnosti Jiřího Smrta a pracovníků vývojových dílen byly na ústavu svépomocí sestrojeny první automatické syntetizátory SynGen-1 a SynGen-2.

Paralelně s chemií oligonukleotidů byla věnována pozornost syntézám a biochemickým studiím chemicky modifikovaných nukleosidů. Strukturně pozměněné nukleosidy fungují jako antimetabolity v procesech metabolismu nukleových kyselin a mohou tedy ovlivňovat enzymové reakce v buňkách nebo buněčných parazitech (např. viry, bakterie, plísňe). Osobnostmi nukleosidového výzkumu byli v 60. letech František Šorm, Alois Pískala, Jiří Žemlička, Stanislav Chládek, Jiří Beránek, Miroslav Prystaš, Antonín Holý, Josef Piřha, Jiří Veselý, Alois Čihák a Karel Raška, Jr. Pozornost farmaceutického průmyslu se v té době upínala hlavně na látky s cytostatickými účinky. První nukleosidové práce v ÚOCHB na konci 50. let se týkaly hlavně 6-azauridinu (obr. 1), což byl v té době v socialistickém Československu jediný komerčně dostupný nukleosid. Získával se jako vedlejší produkt z jedné biotechnologické výroby na Slovensku a důvodem zájmu o něj byly jeho cytostatické účinky. 6-Azauridin byl krátce vyvíjen firmou Spofa jako prostředek k léčbě leukémie a byl dokonce licencován britské firmě Distillers Co. V klinických zkouškách se však jeho antileukemické účinky ukázaly jako nedostatečné a vývoj byl ukončen. Mnohem úspěšnější byl 6-azauridin-triacetát. Tento derivát byl komerčně dostupný pod názvem Ribozauracil a prodával se v USA jako léčivo na lupénku^{4,5}.

I jeho používání však bylo zastaveno, a to z důvodu tromboembolických vedlejších účinků u malého procenta pacientů.

Biologická zajímavost 6-azapyrimidinových derivátů vedla logicky k myšlence syntetizovat jejich 5-azaanalogy. Toto téma bylo náplní disertační práce vědeckého aspiranta Aloise Pískaly. Ukázalo se, že syntetizovat 5-azauridin je nesmírně obtížné, a to z důvodu nestability triazinového kruhu – poloha 6 je extrémně náchylná k ataku nukleofilních činidel včetně OH^- iontů vody a dochází vždy spontánně k jeho otevření⁶. Po velkém úsilí se Pískalovi látka podařilo připravit značně složitým postupem výstavby celé heterocyklické části. K velkému zklamání však byly jeho biologické účinky nulové a Šorm poté Pískalovi zakázal další 5-azapyrimidinové deriváty připravovat jakožto ztrátu času a plýtvání drahými chemikáliemi. Pískala ale i tak v syntézách tajně pokračoval a roku 1963 připravil 5-azacytidin⁷. K překvapení všech se ukázaly jednak jeho mimořádně silné antibakteriální účinky, ale především účinky cytostatické, konkrétně antileukemické. Tématika 5-azacytosinových derivátů získala ihned oficiální podporu a rok na to byl syntetizován i 2'-deoxy analog, 5-aza-2'-deoxycytidin (decitabin, obr. 1). Na obě molekuly byly podány patentové přihlášky a patenty dokonce licencovaly velké farmaceutické firmy (Bayer a Upjohn, později Bristol-Myers). Vzhledem ke komplikovanému způsobu přípravy byl prakticky veškerý materiál obou nukleosidů na preklinické a klinické testy (mnohasetgramové až kilogramové šarže) po dlouhá léta syntetizován v ÚOCHB vlastníma rukama Dr. Pískaly a jeho spolupracovníků. Bohužel jeho objevy byly učiněny v nepříliš vhodné době, a přestože obě látky po 40 letech výzkumu nakonec dospěly až ke klinickému schválení, jejich autor ani ústav z nich neměl nikdy žádný zisk. Na tom se podepsaly jak nevýhodné smlouvy s firmami nebo jejich nedodržení, tak především neznalost patentového práva a všeobecně špatná patentová politika tehdejší Československé akademie věd. Pohnutá historie vývoje obou léčiv byla nedávno podrobně vylíčena v časopise Vesmír⁸. Průlomový objev, který hlavní měrou přispěl ke klinickému vývoji obou léčiv, učinili v roce 1980 profesor Peter Jones se svou doktorandkou



Obr. 1. Struktury biologicky aktivních 6-aza- a 5-azapyrimidinových nukleosidů

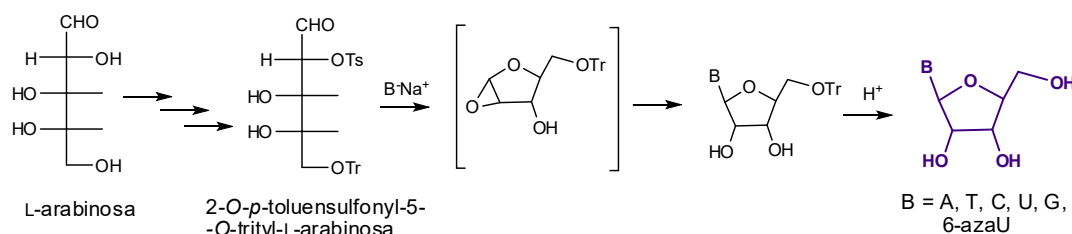
Shirley Taylor z University Jižní Kalifornie (USC, Los Angeles), když při práci s 5-azacytidinem pozorovali v té době téměř neuvěřitelný jev přeměny rakovinných buněk do stadia víceméně normálních buněk. K objevu došlo náhodou. Stačilo, aby si jeden z laborantů Jonesovy laboratoře po skončení experimentů s azacytidinem neuklidil stůl a odjel na dovolenou. Když se vrátil, zapomenuté rakovinné buňky byly po několikátýdenním působení azacytidinu zcela zdravé. Profesora Jonese účinek látky natolik nadchnul, že si 5-azacytidin podle Pískalovy publikace v Collection of Czechoslovak Chemical Communication⁷ ihned nasyntetizoval k dalším výzkumům a dokonce si nechal jeho označení 5-AZA-C přepsat jako novou poznávací značku svého auta.

Jak tedy 5-azacytidin funguje? Ukázalo se, že při nízkých koncentracích mají 5-azacytosinové nukleosidy zcela nový mechanismus účinku, odlišný od všech dosud známých cytostatik. 5-Azacytidin a decitabin fungují na epigenetickém principu jako inhibitory DNA methylací⁹. DNA je methylována enzymem DNA methyltransferasou v poloze 5 cytosinu; K DNA methylací dochází téměř výhradně v oblasti zvýšeného výskytu CpG dinukleotidů, tzv. CpG ostrůvků, které jsou přítomny v promotorové oblasti přibližně 50 % genů. Právě abnormální hypermethylace promotorových regionů v CpG ostrůvcích byla u mnoha druhů malignit prokázána jako příčina utlumení funkce tumorsupresorových genů a rozvoje rakovinného bujení. Enzym DNA methyltransferasa a její inhibice se tak stává důležitým targetem ve vývoji antitumorových léčiv, která necílí na rakovinné buňky za účelem jejich zničení, ale místo toho umožňují zpětnou přeměnu maligní buněčné populace do stavu více méně normálních zdravých buněk¹⁰. Po čtyřiceti letech od publikace prvních syntéz a mnoho let po expiraci původních patentů byly nakonec oba 5-azacytosinové nukleosidy schváleny FDA jako léčiva k terapii myelodysplastických syndromů pod názvy Vidaza® (5-azacytidin, schválen 2004) a Dacogen® (5-aza-2'-deoxycytidin, schválen 2006). Dalšími indikacemi pro jejich aplikaci jsou akutní myeloidní leukémie (Vidaza®, Dacogen®) a chronická myelomonocytová leukémie (Vidaza®).

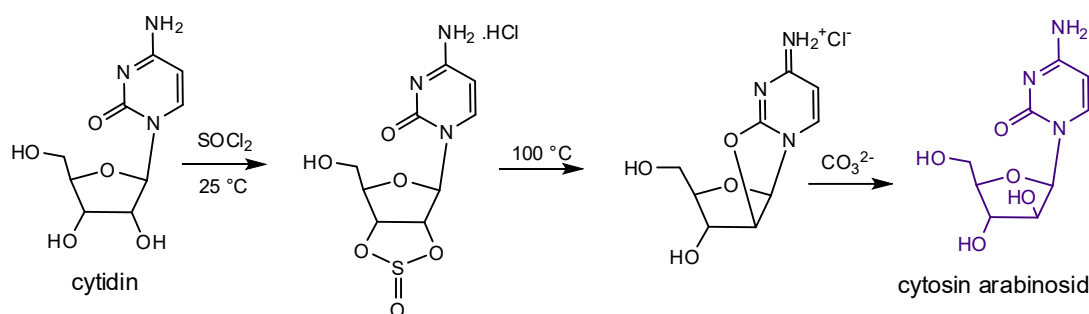
Ve stejné době, kdy Pískala rozvíjí svou chemii 5-azacytidinu, začíná svou kariéru v ÚOCHB také mladý Antonín Holý. Ten se nejprve jako aspirant pod vedením Dr. Zdeňka Arnolda věnoval klasické organické syntéze,

speciálně syntetickému využití reaktivity dimethylformamidu a polymethiniových solí^{11–13}. Do nukleosidové skupiny nastoupil po aspirantůře a zde se několik let zabýval hlavně 6-azauridinovou chemií, fosforylačními reakcemi, přípravou krátkých oligoribonukleotidů, cyklických ribonukleosidfosfátů a nukleosid 5'-fosfitů. Jeho průlomovou prací však byla roku 1969 syntéza L-nukleosidů a jejich fosforylovaných metabolitů. L-Nukleosidy byly v hledáčku biochemiků již nějaký čas, ale cesta k nim byla synteticky obtížná. První syntézy popsane o pět let dříve vycházející z halogenosy L-ribosy nebo halogenosy 5'-difenylofosforyl-L-ribosy a soli příslušné báze vedly jen k malým množstvím požadovaného produktu^{14,15}. Holého syntéza vycházející z L-arabinosy přes 2-O-p-toluensulfonyl-5-O-trityl-L-arabinosu, uzavření epoxidového kruhu mezi polohami 1 a 2 a následné otevření epoxidu sodnou solí příslušné báze bylo synteticky jednoduché, univerzální a umožnilo získávat L-nukleosidy ve velkých, až 100 g šaržích¹⁶ (obr. 2). O tři roky později, roku 1972 publikoval Holý podobně úspěšnou metodiku syntézy L-deoxyribonukleosidů¹⁷. L-Nukleosidy byly předmětem výzkumu mnoha biochemických pracovišť, avšak významné účinky a uplatnění v té době ještě nenašly. Jejich „zlatá éra“ měla přijít až o několik desítek let později, když se hlavním úkolem farmaceutických firem stal boj s těžkými virovými infekcemi, jako HIV, hepatitida B nebo cytomegalovirové infekce u transplantovaných pacientů. Antivirotika, která dnes patří k hlavním terapeutikům proti těmto virovým infekcím, jako např. lamivudin, emtricitabin, clevudin, telbivudin nebo maribavir, jsou sloučeniny na bázi L-nukleosidů¹⁸. Přesto, že žádný z těchto preparátů není originálním produktem našeho ústavu, původní syntetické know-how našich chemiků k jejich vývoji přispělo významnou měrou.

Omezený přístup k devizovým prostředkům byl iniciací snahy o maximální soběstačnost, a to v nejrůznějších odvětvích, chemii a zdravotnictví nevyjímaje. Proto bylo např. vysoce oceňovaným počinem vypracování originální syntézy cytostatika 1-β-D-arabino-furanosylcytosinu (cytosin arabinosid, araC, cytarabin) používaného k léčbě leukemií. Inovativní pouze tříkroková syntéza vycházející z cytidinu (obr. 3) byla velmi efektivní a firma Spofa tak mohla podle tohoto postupu vyrábět vlastní cytarabin, který byl dodáván na trh pod firemním názvem Alcyten. Autoři syntézy Hubert Hřebabecský a Josef Brokeš pod



Obr. 2. Zkrácené schéma syntézy L-nukleosidů



Obr. 3. Originální syntéza cytosin arabinosidu (cytarabinu) vyvinutá v ÚOCHB

vedením Jiřího Beránka byli za tuto syntézu v roce 1980 oceněni Cenou ČSAV „Za nové poznatky v oblasti kancerostatika 1-β-D-arabinofuranosylcytosinu vedoucí k praktické aplikaci dosažených výsledků.“ (cit.¹⁹).

Zatímco v 50. a 60. letech byl hlavní zájem farmaceutického průmyslu soustředěn na vývoj látek cytostatické povahy, koncem 60. a počátkem 70. let se začíná obracet pozornost stále více i k virovým infekcím. Jedním z iniciátorů tohoto trendu byl v té době explozivní nárůst genitálního herpesu v USA, zřejmě jako důsledek společenských změn vedoucích k celkovému uvolnění morálky, vzniku hnutí hippies a zvýšení promiskuity. Genitální herpes je sexuálně přenosné onemocnění, které je způsobené nejčastěji virem herpes simplex typu 2 (HSV-2), ale původcem může být někdy i HSV-1. Jedna z prvních, kdo se začal systematicky věnovat hledání a testování protivi-rových látek na bázi nukleosidových analog, byla americká biochemička a farmakoložka Gertrude Elion, vedoucí oddělení experimentální terapie společnosti Burroughs Wellcome. Poté, co si všimla, že adenin arabinosid vykazoval známky aktivity proti některým DNA virům, začala syntetizovat nové látky na bázi nukleosidových analogů. Výsledkem tohoto úsilí byl mezi jinými také purinový analog 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanin (acyklovir, Zovirax), který se záhy ukázal jako účinný inhibitor herpes simplex viru typu I a typu II a dalších herpetických virů^{20,21}. Zovirax firmy Burroughs Wellcome dlouho vedl na žebříčku prodeje protivi-rových léků a v roce 1988 byla za něj Gertrud Elion spolu s kolegou Georgem Hitchingsem udělena Nobelova cena. Byla to historicky první Nobelova cena cílená do farmaceutického průmyslu. Z chemického hlediska byl acyklovir představitelem nové generace antimetabolitů, založené na tom, že potřebné prostorové uspořádání bioaktivní molekuly nemusí být *a priori* fixováno, ale může být vyvoláno z rozvolněné struktury molekuly teprve kontaktem s cílovým enzymem metabolismu, na nějž působí. Podobně jako u antimetabolitů dříve zmíněných, je i zde pro jejich funkci klíčovým metabolickým krokem fosforylace. V buňkách infikovaných herpes virem je tato fosforylace 30–120krát rychlejší než u neinfikova-

ných buněk, klíčovým enzymem katalyzujícím tuto fosforylaci je thymidinkinasa.

Nový typ nukleosidových antimetabolitů s acyklickým řetězcem nahrazujícím cukerný kruh inspiroval nukleosidové chemiky z různých pracovišť. V ÚOCHB tato tematika zaujala mladého vědce Antonína Holého, který brzy na to syntetizoval svou vlastní sérii acyklických analogů. V květnu 1976 dostal Holý příležitost zúčastnit se v Göttingenu nukleosidové konference s názvem „Symposium on synthetic nucleosides, nucleotides and polynucleotides“. Konferenci organizoval Karl-Heinz Scheit, který byl Holého přítelem a spolupracovníkem spolu s Fritzem Ecksteinem během Holého tříměsíční postdoktorské stáže v Göttingenu. Na konferenci se Holý seznámil s předními osobnostmi nukleosidové chemie té doby, přičemž do budoucna nejvýznamnější bylo setkání s mladým belgickým lékařem – virologem z Lovaně Erikem De Clercqem. De Clercq, ač vzděláním lékař, vynikal znalostmi chemie a schopností správného chemického myšlení. Velmi rychle odhadl potenciál nukleosidů a nukleosidových antimetabolitů v jejich působení proti buněčným parazitům včetně virů. Na konferenci do Göttingenu přijel hlavně proto, aby se tu pokusil najít chemika ochotného ke spolupráci v hledání protivi-rově aktivních látek. Setkání De Clercqa s Holým bylo pro oba muže doslova osudové. Z obou vědců se stali doživotní přátelé a z jejich spolupráce vnikla v průběhu let protivi-rová léčiva zachraňující životy miliónů lidí. Toto první setkání později oba zmiňovali ve svých přednáškách a retrospektivních publikacích jako zcela zásadní^{22,23}. Erik De Clercq se mnohokrát vyjádřil, že jeho největší životní výhrou byla právě účast na konferenci v Göttingenu v roce 1976 a objev zdejší plejády vynikajících nukleosidových chemiků, z nichž první mezi všemi byl Antonín Holý. První série pouhých šesti látek přišla poštou z Prahy do Lovaně ještě téhož roku. K obrovskému překvapení byly dvě látky protivi-rově aktivní, z čehož nejnadějnější se jevil (S)-9-(2,3-dihydroxypropyl)adenin (DHPA)²⁴. K objevu DHPA došlo jen krátce poté, co byl objeven protivi-rový účinek acykloviru. Na rozdíl od acykloviru působícímu selektivně proti her-

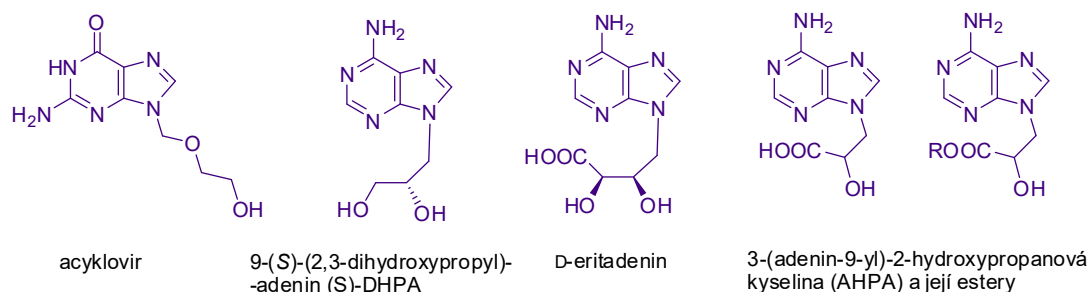
pesvirům na základě přednostní fosforylace virovou thymidinkinasou, DHPA má široké spektrum aktivit jak proti DNA virům, tak i RNA virům. Jeho účinek spočívá v reverzibilní inhibici enzymu *S*-adenosylhomocystein-hydrolasy katalyzujícímu hydrolýzu *S*-adenosylhomocysteinu (SAH) na adenosin a L-homocystein. Hromadí se SAH, jenž vzniká z *S*-adenosyl-L-methioninu (SAM) odštěpením methylu, následně působí jako inhibitor různých SAM-dependentních methylačních procesů včetně těch, které jsou nezbytné pro fázi zrání (maturace) virové RNA²⁵. Pro svou vysokou účinnost a prakticky nulovou toxicitu byl DHPA postoupen do klinického testování a posléze schválen jako léčivo k topickému použití pro indikaci herpes labialis (opar), jehož původcem je virus HSV-1. Preparát se prodával ve formě krému pod názvem Duvira[®] gel a byl vyráběn firmou Spofa.

Dalšími Holého účinnými virostatiky s podobným mechanismem účinku (inhibice methylačních reakcí) byly látky D-eritadenin, 3-(adenin-9-yl)-2-hydroxypropanová kyselina (AHPA) a AHPA estery (obr. 4, cit.^{26–28}). Z těchto látek se však už žádná do klinické fáze nedostala. Nejvýznamnější Holého objevy z oboru protivirotických léčiv však již měly přijít za nedlouho.

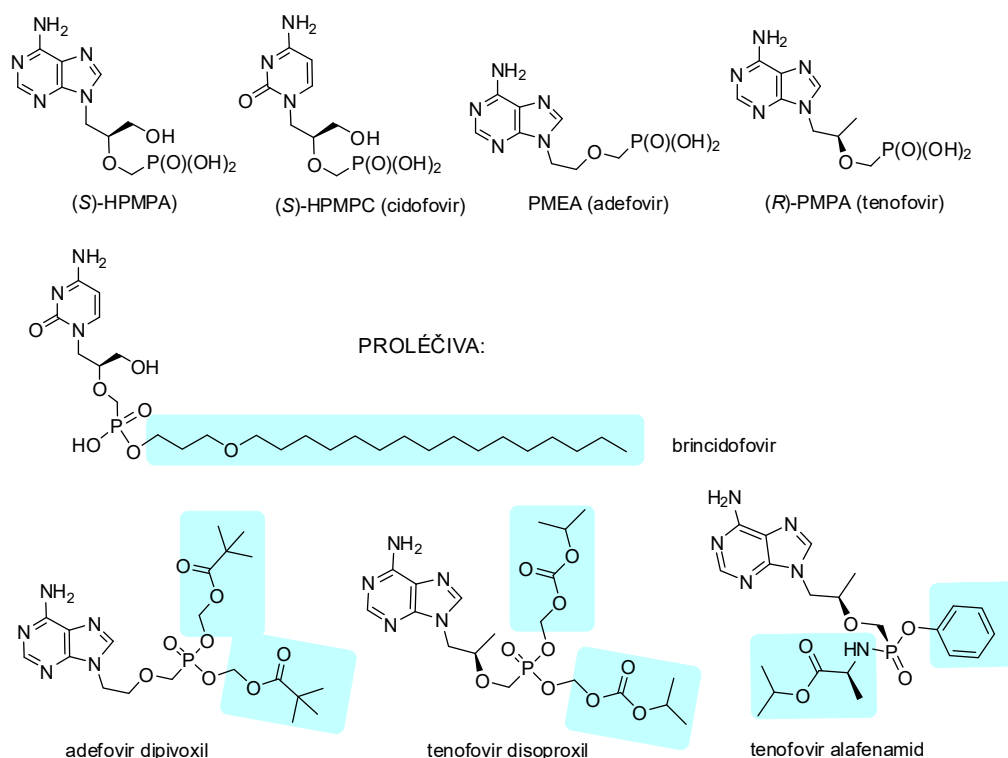
Jak již bylo zmíněno výše, většina nukleosidových analogů při vstupu do buňky potřebuje být fosforylována, aby se mohl projevit jejich biologický účinek jakožto anti-metabolitu. Přímá aplikace nukleosidfosfátů však není reálná, fosfáty jsou chemicky a metabolicky nestabilní. Tento problém vyřešil Holý jednoduchým a velmi elegantním způsobem – připojením fosfátového uskupení přes methylenový můstek. Takové látky jsou tedy nikoli fosfáty, ale fosfonomethylderiváty. Nemohou v organismu hydrolyticky odštěpit fosfát, ale mohou se dále fosforylovat a vstupovat do metabolických dějů podobně jako nukleosidtrifosfáty. Připojením fosfonomethylového uskupení k molekule (*S*)-DHPA tak vznikla první látka nového strukturního typu, 3-hydroxy-2-(fosfonomethoxy)propyl-derivátů, zde konkrétně (*S*)-9-(3-hydroxy-2-fosfonomethoxypropyl)adenin [(*S*)-HPMPA] (obr. 5). (*S*)-HPMPA vykazoval široké spektrum aktivit proti prakticky všem DNA virům, tj. herpesvirům, poxvirům, adenovirům, hepadnavirům a papillomavirům²⁹. Navzdory výsledkům protivirotických testů nebyl HPMPA nikdy dále vyvíjen jako

protivirotické léčivo, a to ani proti těm indikacím, kde žádná alternativní možnost léčby nebyla známá, jako je tomu např. u adenovirových infekcí. Jeho objev však inicioval syntézu dalších acyklických nukleosidfosfonátů (ANP) a v podstatě určil směr nukleosidové chemie v ÚOCHB na příští tři dekády. Při té příležitosti je třeba zmínit úzkou spolupráci Antonína Holého s Ivanem Rosenbergem. Ivan Rosenberg byl Holého první vědecký aspirant. Tématem jeho disertační práce byla příprava fosfonomethylderivátů přirozených ribonukleosidů³⁰. Tyto látky sice žádnou biologickou aktivitu neměly, stejně jako jejich analogy v 2'-deoxy řadě³¹, ale byly zde vypracovány základní metodiky fosfonátové chemie. Největším výsledkem spolupráce obou kolegů jsou nové protivirotické struktury ANP, z nichž některé se později staly klinickými léčivými (adefovir, cidofovir). Nedílnou součástí celého týmu a Holého přítelem byl Dr. Ivan Votruba. Ten prováděl nejen veškeré dostupné biochemické eseje, ale též farmakokinetické studie a položil v ÚOCHB základy nového oboru biochemické farmakologie. Antivirový screening ANP byl nadále prováděn Erikem De Clercqem v Rega Institute for Medical Research Katolické Univerzity v Lovani. Klíčovým partnerem pro klinický vývoj a komercializaci úspěšných kandidátů byl John Martin, generální ředitel firmy Gilead Sciences, Inc.

Prvním acyklickým nukleosidfosfonátem, který dosáhl klinické praxe, byl cidofovir, (*S*)-1-(3-hydroxy-2-fosfonomethoxypropyl)cytosin (HPMPC, cidofovir, obr. 5, cit.³²). Tato látka s univerzální aktivitou proti veškerým DNA virům byla schválena FDA roku 1996 jako léčivo proti cytomegalovirové retinitidě u pacientů s AIDS a prodává se pod názvem Vistide[™] (výrobce Gilead Sciences, Inc.). Kromě toho se používá off-label k léčbě závažných virových infekcí, kde není známa jiná možnost léčby nebo stávající léčba selhává. Mezi takové indikace patří těžké papilomatózy, polyomavírové infekce (progresivní multifokální leukoencefalopatie), adenovirové infekce a poxvirové infekce (molluscum contagiosum, orf, opičí neštovice)³³. V odůvodněných případech lze cidofovir také použít i pro imunokompromitované pediatrické pacienty s komplikovanými adeno-, polyoma- nebo cytomegalovirovými infekcemi. Cidofovir se aplikuje intravenózně, přičemž jeho biodostupnost je velmi nízká.



Obr. 4. Acyklovir a protivirotické acyklické analogy nukleosidů syntetizované v ÚOCHB



Obr. 5. Struktury protivirových acyklických nukleosidfosfonátů a jejich prolékových forem

Více než 90 % léčiva se vylučuje v nezměněné podobě ledvinovou cestou a způsobuje poškození ledvin. Problém s nefrotoxicitou se dá částečně vyřešit použitím nefroprotektivního léčiva probenecidu, který se podává před vlastní aplikací cidofoviru³⁴.

Aby se zvýšila biodostupnost cidofoviru, byly syntetizovány a zkoušeny různé formy proléčiv, avšak většina pokusů aplikovat cidofovir v podobě orálně dostupného proléčiva selhala. Jedinou výjimkou byly alkoxyalkylestery, z nichž neúspěšnějším kandidátem byl hexadecyloxypropylester cidofoviru (brincidofovir, obr. 5), vyvíjený firmou Chimerix, Inc. V červnu 2021 byl brincidofovir schválen FDA jako možný prostředek k léčbě pravých neštovic v případě zneužití jejich původce, viru variola, k bioteroristickému útoku nebo v případě jeho náhodného úniku. Brincidofovir se prodává pod komerčním názvem TembexaTM. V klinických zkouškách proti adenovirovým a cytomegalovirovým infekcím dospěl brincidofovir až do fáze 3, avšak jeho další vývoj byl ukončen kvůli vážným vedlejším účinkům³⁵.

Dalším léčivem z řad ANP byl 9-[2-(fosfonomethoxy)ethyl]adenin (PMEa, adefovir, obr. 5, cit.^{36,37}). Adefovir je aktivní proti retrovirům (HIV) a některým typům DNA virů. Aktivita proti HIV a viru hepatitidy B spočívá v jeho funkci inhibitoru reverzní transkriptasy. Adefovir se používá v prolékové formě jako bis (pivaloyloxymethyl)ester (adefovir dipivoxil)³⁸ a původně

byl vyvíjen jako léčivo proti HIV. Klinické testy však ukázaly, že potřebná denní dávka (120 mg) je s ohledem na jeho nefrotoxicitu příliš vysoká a vývoj adefoviru jako anti-HIV preparátu byl proto ukončen. Nicméně se ukázalo, že látka má mnohonásobně vyšší účinnost proti HBV, kde lze dosáhnout požadovaného terapeutického efektu již při denní dávce desetkrát nižší^{39,40}, tj. 10 mg. To umožnilo pokračující klinický vývoj adefoviru jako terapeutika proti chronické hepatitidě B a posléze roku 2002 jeho schválení FDA a prodej pod obchodním názvem HepseraTM (Gilead Sciences, Inc.).

Nejúspěšnějším ANP a bez pochyby nejslavnější sloučeninou pocházející z ÚOCHB je (R)-9-[(2-fosfonomethoxy)propyl]adenin (PMPA, tenofovir, obr. 5). Jeho syntéza byla publikována poprvé roku 1995 v časopisu Collection⁴¹. O rok později následovala práce popisující jeho mimořádné protivirové účinky proti hepadnavirům (HBV) a retrovirům⁴², a to na principu inhibice jejich reverzní transkriptasy. Podobné účinky kromě tenofoviru vykazoval také ještě jeho 2,6-diaminopurinový analog (HPMPDAP). Situace kolem HIV/AIDS byla na počátku 90. let nesmírně vážná. V rozvojových zemích, zejména v zemích subsaharské Afriky, začalo šíření viru nabírat katastrofického rozměru. V zemích s vyspělejší zdravotnictvím sice již některé preparáty proti HIV byly k dispozici, avšak léčba spočívala více méně jen v určitém zpomalení infekce. Virus si na tyto látky (převážně nukle-

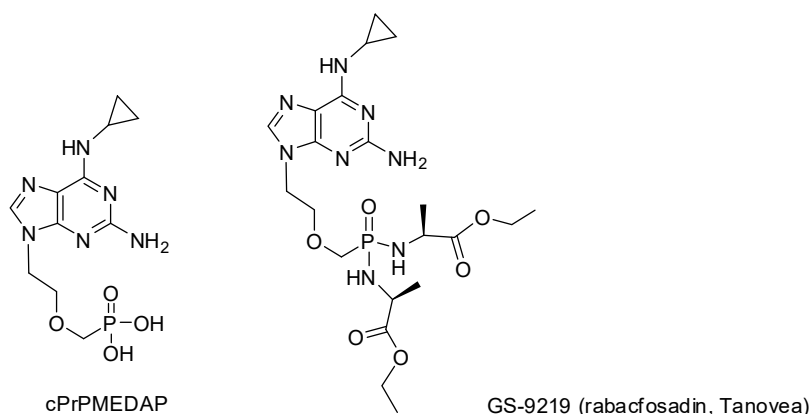
osidové povahy) rychle vytvářel rezistenci. Pacient byl nucen užívat denně až dvacet různých tablet a léčba byla prováděna závažnými vedlejšími účinky. Zvládnutí problému s HIV se stalo prioritou farmaceutického průmyslu. Firma Gilead Sciences, která již měla jeden Holého preparát (Vistide) na trhu a druhý (adefovir) tou dobou v klinickém vývoji, začala po zjištění anti-HIV účinnosti tenofoviru na lidech ihned s jeho klinickým vývojem. Vzhledem k jeho nízké biodostupnosti ve formě volné fosfonové kyseliny bylo přistoupeno k syntéze proléčiva, bis(isopropoxykarbonyloxymethyl)esteru (tenofovir disoproxil-fumarát, TDF, obr. 5). Hlavní zásluha na dotažení tohoto náročného projektu do konce náleží tehdejšímu prezidentovi Gilead Sciences Johnu Martinovi. To celé by však nikdy nebylo možné bez vzájemné souhry a absolutní důvěry všech tří zúčastněných stran, tj. Antonína Holého jakožto autora látky, virologa Erika De Clercq a Johna Martina jako průmyslového partnera. Dramatický průmyslový vývoj látek z Holého laboratoře popisuje geniálním způsobem divadelní hra Petra Zelenky *Elegance molekuly* v podání Dejvického divadla. Historickým mezníkem v boji s HIV se stal 26. říjen 2001, kdy byl tenofovir disoproxil-fumarát schválen FDA pro léčbu HIV. Na trh byl uveden pod názvem Viread a aplikoval se orálně jako jedna tableta denně. Brzy na to Gilead uvedl na trh kombinace Vireadu s dalšími antiretrovirovými léčivy. Jsou to preparáty Atripla (TDF/ emtricitabin/efavirenz), Complera (TDF/ emtricitabin/rilpivirin), Stribild (TDF/ emtricitabin/elvitegravir/cobicistat), a Truvada (TDF/ emtricitabin). Kombinovaná antiretrovirová terapie (cART) je v současné době preferenční léčbou pro naprostou většinu z celkových dnes již 38 miliónů HIV pozitivních lidí na světě. Princip cART spočívá v kombinaci několika antiretrovirových léčiv zasahujících několik stadií replikačního cyklu viru současně. Tenofovir jakožto nukleosidový inhibitor reverzní transkriptasy (NRTI) tak může být kombinován s nenukleosidovými inhibitory reverzní transkriptasy (NNRTI), inhibitory virové proteasy, inhibitory vstupu nebo integrasovými inhibitory⁴³. Obrovský význam tenofoviru v potlačení šíření HIV infekce bylo

zjištěno, že tato látka funguje též profylakticky. Zabraňuje přenosu HIV z matky na dítě a jeho preventivní užívání dokáže také spolehlivě chránit osoby, které jsou s HIV pozitivními běžně ve styku. To jsou především rodinní příslušníci, partneři nebo zdravotnický personál. Jen díky tenofoviru mohou dnes HIV pozitivní prožívat normální plnohodnotný život a nákaza HIV už definitivně přestala být rozsudkem smrti, ale léčitelným chronickým onemocněním. Je smutným paradoxem, že ke schválení léčebné kombinace TDF s emtricitabinem pro preventivní použití jakožto preparátu Truvada, došlo dne 16. července roku 2012, což je den Holého úmrtí.

V roce 2015 byla firmou Gilead uvedena na trh nová proléková forma tenofoviru – tenofovir alafenamid-fumarát (TAF). Toto proléčivo je představitelem tzv. proTides, aryloxyfosforamidátových derivátů, v nichž amidátovou složku představuje ester aminokyseliny. „ProTides“ jsou ve farmacii častou používanou prolékovou formou, zejména díky optimálním farmakokinetickým vlastnostem a relativně snadné syntéze. TAF má 10krát vyšší účinnost než TDF a na rozdíl od TDF k jeho aktivaci dochází cíleně až v lymfoidních buňkách, což představuje výhodu nižší systémové expozice a tedy i nižší toxicity. TAF se prodává pod komerčním názvem Vemlidy a je též součástí několika preparátů cART jako Genvoya, Odefsey, Descovy, Biktarvy a Symtuza.

Nesmírně důležitý přínos tenofoviru spočívá i v léčbě další závažné virové choroby, a to chronické hepatitidy B. K léčbě HBV byly schváleny obě prolékové formy – tenofovir disoproxil i tenofovir alafenamid⁴⁴.

Dále je třeba zmínit, že kromě oněch tří klinicky úspěšných ANP cidofoviru, adefoviru a tenofoviru byly v Holého týmu během tří dekád systematického výzkumu syntetizovány stovky dalších sloučenin tohoto strukturního motivu. Mnohé z nich jsou účinná antivirotika, ale jsou zde též cytostatika a látky s antiparazitickými účinky nebo imunomodulačními účinky. Před několika lety byla velká pozornost věnována cytostatickým fosfonomethoxyethyl derivátům purinových bazí: guaninu, 2,6-diaminopurinu a N⁶-substituovaným 2,6-diaminopurinům⁴⁵. Jeden z nich,



Obr. 6. Struktura cytostatických fosfonátů cPrPMEDAP a jeho prolékové formy rabacfosadinu (GS-9219, Tanvea)

N⁶-cyklopropyl-2,6-diamino-9-[2-(fosfonomethoxy)ethyl]-purin (cPrPMEDAP, obr. 6) byl dokonce vybrán jako vůdčí struktura a ve formě bis-amidátového prolečiva s ethylesterem L-alaninu vyvíjen firmou Gilead Sciences jako cytostatikum k léčbě Non-Hodgkinových lymfomů. Jeho vysoká účinnost v *in vivo* testech a dobrá snášenlivost záhy vedly k zahájení klinických zkoušek na lidských pacientech. U testů na psech stačila jedna jediná injekce látky a nádory zmizely do několika dnů. Výsledky měly tehdy značný ohlas i ve sdělovacích prostředcích i tím pádem též u laické veřejnosti. O to větší zklamání bylo, když se u lidských pacientů objevily nečekané a zcela neakceptovatelné vedlejší účinky a klinické zkoušky musely být ukončeny. Nicméně, osud této látky byl nakonec přece jen úspěšný. Licenci odkoupila firma na veterinární léčiva VetDC v Coloradu, kde byla látka vyvíjena jako léčivo proti psím lymfomům pod označením (VDC-1101, rabacfosadin). V dubnu 2017 byl rabacfosadin oficiálně schválen FDA a v současné době je vyráběn a prodáván firmou Elanco pod názvem TanoveaTM. Celý tento pozoruhodný příběh nedávno zpracoval ve svém review⁴⁶ Erik De Clercq.

Jakým směrem pokračovala nukleosidová chemie v ÚOCHB po smrti Anonína Holého a jaké jsou současné trendy v medicíně chemii ANP?

Jak již bylo zmíněno, ANP nejsou jen virostatika a cytostatika. Velká pozornost je věnována novým strukturám účinným proti parazitům. Ve spolupráci s Univerzitou v Queenslandu již několik let úspěšně vyvíjíme ANP jako potenciální antimalarika. Princip účinku spočívá v inhibici enzymů 6-oxopurin fosforibosyltransferas původců malárie parazitů *Plasmodium falciparum* a *Plasmodium vivax*. Jedná se o enzymy, které hrají zásadní roli v životním cyklu těchto parazitů při syntéze purinů *de novo*^{47,48}. Hlavní zásluhu na rozvoji této tematiky měla Dr. Dana Hocková (1970–2021) a v současné době výzkum stále probíhá v týmu Dr. Zlatka Janeby. Z dalších parazitů je cíleno na parazity *Trypanosoma brucei* (původce spavé nemoci). Nesmírně důležitý je vývoj nových ANP derivátů proti těžkým bakteriálním infekcím, kde se ANP uplatňují např. jako inhibitory adenylácyklosóvého toxinu bakterie *Bordetella pertussis* (původce černého kašle), nebo jako látky potenciálně účinné proti antraxu (bakterie *Bacillus anthracis*)⁴⁹.

Je třeba si připomínat, že navzdory veškerému pokroku v moderní medicíně potřeba nových biologicky aktivních molekul stále trvá. Důvodem jsou nově se objevující infekce, rezistence mnohých patogenů vůči stávající léčbě a narůstající počet pacientů s imunitními problémy. Mnohé nukleosidové analogy včetně ANP s vysokou aktivitou proti vážným, život ohrožujícím infekcím dosud čekají na svůj další vývoj a klinické využití. Stále např. chybí efektivní léčba cytomegalovirových a polyomavirových infekcí u imunokompromitovaných pacientů, léčba poxvirových infekcí a některých specifických herpesvirových infekcí (např. lidský herpesvirus typu 6, HHV-6). To vše opodstatňuje náš další výzkum, kterým se aktuálně zabýváme a budeme se zabývat i nadále.

Vypracováno s finanční podporou Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v rámci projektu Český národní uzel Evropské infrastruktury pro translační medicínu EATRIS-CZ, grant č. LM2023053.

Seznam zkratk

AC	5-azacytidin (5-azacytidine)
ANP	acyklické nukleosidfosfonáty (acyclic nucleoside phosphonates)
cART	kombinovaná antiretrovirová terapie (combination antiretroviral therapy)
DAC	decitabin (decitabine)
DHPA	(S)-9-(2,3-dihydroxypropyl)adenin
DMT	DNA methyltransferasa (DNA methyltransferase)
DNA	deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid)
HBV	virus hepatitidy B (hepatitis B virus)
HCMV	lidský cytomegalovirus (human cytomegalovirus)
HHV-6	lidský herpesvirus typu 6 (human herpes virus type 6)
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti (human immunodeficiency virus)
HPMP	(S)-[3-hydroxy-2-(fosfonomethoxy)-propyl]
HPMP-5-azaC	(S)-[3-hydroxy-2-(fosfonomethoxy)-propyl]-5-azacytosin
HPMPC	(S)-[3-hydroxy-2-(fosfonomethoxy)-propyl]cytosin
HSV-1	herpes simplex virus typu 1 (herpes simplex virus type 1)
HSV-2	herpes simplex virus typu 2 (herpes simplex virus type 2)
PME	(fosfonomethoxy)ethyl ((phosphonomethoxy)ethyl)
PMP	(fosfonomethoxy)propyl ((phosphonomethoxy)propyl)
TAF	tenofovir alafenamid (tenofovir alafenamide)
TDF	tenofovir disoproxil-fumarát (tenofovir disoproxil fumarate)
VZV	Varicella zoster virus

LITERATURA

1. Watson J. D., Crick F. H. C.: *Nature* 171, 737 (1953).
2. Smrt J., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 27, 73 (1962).
3. Rosenberg I.: *Chem. Listy* 108, 375 (2014).
4. Šorm F., Škoda J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 21, 487 (1956).
5. Deneau D. G., Farber E. M.: *Dermatologica* 151, 158 (1975).
6. Krečmerová M.: *Chem. Listy* 116, 152 (2022).
7. Pískala A., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.*

- 29, 2060 (1964).
8. Vrtiška O.: *Vesmír* 97, 598 (2018).
9. Jones P. A., Taylor S. M.: *Nucleic Acids Res.* 9, 2933 (1981).
10. Yang X., Lay F., Han H., Jones P. A.: *Trends Pharmacol. Sci.* 31, 536 (2010).
11. Arnold Z., Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 30, 40 (1965).
12. Arnold Z., Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 30, 47 (1965).
13. Holý A., Arnold Z.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 30, 53 (1965).
14. Acton E. M., Ryan K. J., Goodman L.: *J. Am. Chem. Soc.* 86, 5353 (1964).
15. Shimizu B., Saito A., Nishimura T., Miyaki M.: *Chem. Pharm. Bull.* 15, 2011 (1967).
16. Holý A., Šorm F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 34, 3383 (1969).
17. Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 37, 4072 (1972).
18. Mathé C., Gosselin G.: *Antiviral Res.* 71, 276 (2006).
19. Brokeš J., Beránek J., Hřebabecský H.: *Method of Preparation of the 1-β-D-arabinofuranosylcytosine*. Patent No. CS212052 B1 (1982).
20. Fyfe J. A., Keller P. M., Furman P. A., Miller R. L., Elion G. B.: *J. Biol. Chem.* 253, 8721 (1978).
21. Kent R., Huber B.: *Nature* 398, 380 (1999).
22. De Clercq E.: *Med. Res. Rev.* 33, 1278 (2013).
23. Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 71, 5 (2006).
24. De Clercq E., Descamps J., De Somer P., Holý A.: *Science* 200, 563 (1978).
25. Votruba I., Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 45, 3039 (1980).
26. Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 49, 2148 (1984).
27. Votruba I., Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 47, 167 (1982).
28. De Clercq E., Holý A.: *J. Med. Chem.* 28, 282 (1985).
29. De Clercq E., Holý A., Rosenberg I., Sakuma T., Balzarini J., Maudgal P. C.: *Nature* 323, 464 (1986).
30. Holý A., Rosenberg I.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 47, 3447 (1982).
31. Krečmerová M., Hřebabecský H., Holý A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 55, 2521 (1990).
32. De Clercq E., Sakuma T., Baba M., Pauwels J., Balzarini J., Rosenberg I., Holý A.: *Antiviral Res.* 8, 261 (1987).
33. De Clercq E.: *Med. Res. Rev.* 28, 929 (2008).
34. Wolf D. L., Rodriguez C. A., Mucci M., Ingrosso A., Duncan B. A., Nickens D. J. J.: *Clin. Pharmacol.* 43, 41 (2003).
35. Huston J., Curtis S., Egelund E. F.: *Ann. Pharmacother.* 57, 1197 (2023).
36. Holý A., Rosenberg I., Dvořáková H.: *Collect. Czech Chem. Commun.* 54, 2190 (1989).
37. Holý A.: *Curr. Pharm. Design* 9, 2567 (2003).
38. Starrett J. E. Jr., Tortolani D. R., Hitchcock M. J., Martin J. C., Mansuri M. M.: *Antiviral Res.* 19, 267 (1992).
39. Fontaine H. a 10 spoluautorů: *Transplantation* 80, 1086 (2005).
40. de Fraga R. S., Van Vaisberg V., Mendes L. C. A., Carrilho F. J., Ono S. K.: *J. Gastroenterol.* 55, 496 (2020).
41. Holý A., Dvořáková H., Masojídková M.: *Collect. Czech Chem. Commun.* 60, 1390 (1995).
42. Balzarini J., Aquaro S., Perno C. F., Witvrouw M., Holý A., De Clercq E.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 219, 337 (1996).
43. Weichseldorfer M., Reitz M., Latinovic O. S.: *Pharmaceuticals* 13, 1798 (2021).
44. de Fraga R. S., Van Vaisberg V., Mendes L. C. A., Carrilho F. J., Ono S. K.: *Gastroenterol.* 55, 496 (2020).
45. Holý A., Votruba I., Tloušťová E., Masojídková M.: *Collect. Czech Chem. Commun.* 66, 1545 (2001).
46. De Clercq E.: *Biochem. Pharmacol.* 154, 265 (2018).
47. Keough D. T. a 11 spoluautorů.: *J. Med. Chem.* 56, 6967 (2013).
48. Keough D. T. a 12 spoluautorů.: *ACS Chem. Biol.* 13, 82 (2018).
49. Kraina P., Česnek M., Tloušťová E., Mertlíková-Kaiserová, Fulton C. J., Davidson E. K., Smith B. P., Watts V. J., Janeba Z.: *Bioorg. Med. Chem.* 95, 117508 (2023).

M. Krečmerová (*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic*): **Nucleoside Chemistry at the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry – Looking Back on History**

Nucleoside chemistry has been developing at the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry (IOCB) since 1957 thanks to the foresight of its first director František Šorm. This new area, targeted especially to oligonucleotide synthesis, earned soon an excellent reputation. At that time IOCB was one of only four institutions in the world successful in oligonucleotide synthesis. First successes in the field of chemically modified nucleosides were syntheses of 6-azauridine as antileukemic agent, 6-azauridine triacetate investigated as antipsoriatic drug (Riboazauracil) and especially 5-azacytosine nucleosides, i.e., 5-azacytidine and 2'-deoxy-5-azacytidine (decitabine) synthesized in early 1960s by Alois Pískala. Both compounds are antileukemic agents working on the epigenetic principle as inhibitors of DNA methylations. At present, they are clinically used for the treatment of myelodysplastic syndromes and other haematological malignancies, marketed under the names Vidaza® (5-azacytidine, approved 2004) and Dacogen® (5-aza-2'-deoxycytidine, 2006). Remarkable synthetic achievements are connected with the personality of Antonín Holý including syntheses of L-nucleosides or acyclic nucleoside analogues, compounds having a sugar furanose ring replaced by a (poly)hydroxylic carbon chain.

Many of them were found effective antivirals. One of them, 9-(*S*)-[(2,3-dihydroxypropyl)]adenine entered to clinical practice as antiherpetic drug Duvira gel. However, it was the development of acyclic nucleoside phosphonates (ANPs), first reported by Holý and De Clercq in 1986, that became a real milestone. During next three decades a number of biologically active ANPs were identified as antivirals, cytostatics, immunomodulators and antiparasitics. Three of them reached the stage of clinical practice as successful antivirals: cidofovir for the treatment of cytomegalovirus retinitis in AIDS patients, tenofovir for the treatment and prevention of HIV (later

approved also for the treatment of hepatitis B), and adefovir for the treatment of hepatitis B. Tenofovir in the form of prodrugs is mostly used as a part of several combined anti-HIV therapeutics containing various anti-HIV drugs in all-in-one pill and is currently the most successful anti-HIV drug available.

Keywords: 6-azauracil, 5-azacytidine, decitabine, antimetabolites, L-nucleosides, acyclic analogues, DHPA, acyclic nucleoside phosphonates, cidofovir, adefovir, antivirals, HIV, tenofovir, combined antiretroviral therapy, antiparasitics



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

IGF2: OPOMÍJENÝ HORMON Z RODINY INZULINU S VÝZNAMNÝM TERAPEUTICKÝM POTENCIÁLEM

Článek je věnován 70. výročí založení Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR v Praze.

TEREZA TURNOVSKÁ, JIŘÍ JIRÁČEK a LENKA ŽÁKOVÁ

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i., Flemingovo nám.2, 166 10 Praha 6, Česká republika
tereza.turnovska@uochb.cas.cz

Inzulinu podobný růstový faktor 2 patří, spolu s několika dalšími inzulinu podobnými peptidy, do evolučně konzervované rodiny signálních molekul, které jsou nezbytné pro normální buněčnou proliferaci a vývoj mozku. Dřívější studie se zaměřovaly převážně na jeho úlohu v embryonálním vývoji a kancerogenezi. V posledních letech byly odhaleny nové poznatky týkající se role inzulinu podobného růstového faktoru 2 v centrální nervové soustavě, zejména jeho význam pro učení, konsolidaci paměti a zlepšení kognitivních funkcí. I přes stále ne zcela prozkoumanou fyziologickou roli inzulinu podobného růstového faktoru 2 se v našem článku snažíme podrobněji popsat a vysvětlit jeho známé funkce a diskutovat jeho potenciální využití, včetně možné aplikace v léčbě neurodegenerativních onemocnění.

Klíčová slova: IGF2, inzulin, inzulinový receptor, IGF2 receptor, kancerogeneze, neurodegenerativní choroby, embryogeneze

Obsah

1. Úvod
2. Inzulinu podobný růstový faktor 2 (IGF2)
 - 2.1. Vazební partneři IGF2
 - 2.2. Fyziologické funkce IGF2
 - 2.2.1. Fyziologický význam v růstu a vývoji
 - 2.2.2. IGF2 a kancerogeneze
 - 2.2.3. IGF2 v nervové soustavě
 - 2.3. Analogy IGF2
3. Závěr

1. Úvod

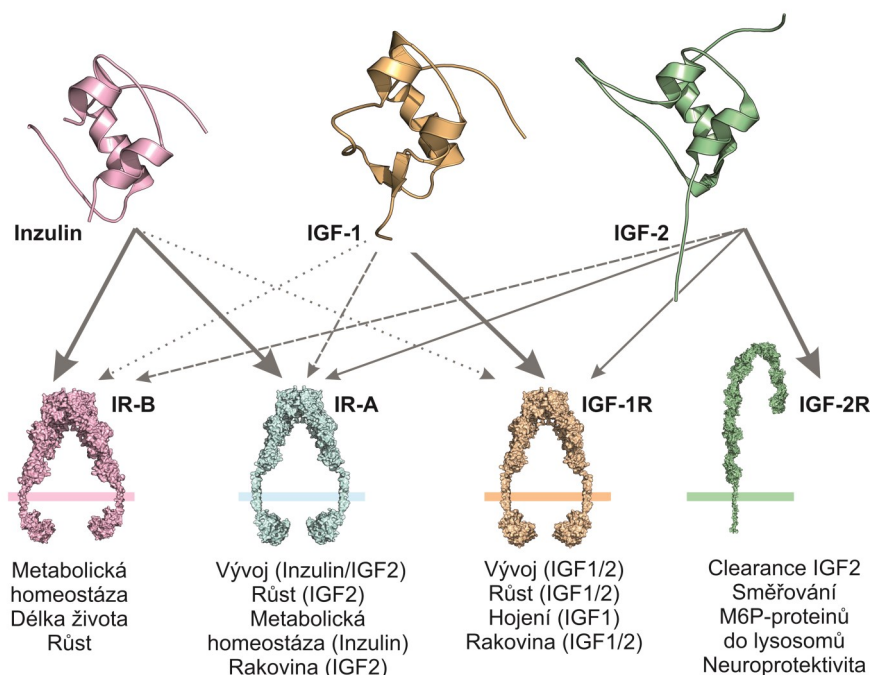
Inzulinu podobný růstový faktor 2 (IGF2) patří, společně se svými známějšími „kolegy“, inzulinem a inzulinu podobným růstovým faktorem 1 (IGF1), do rodiny inzulinu podobných hormonů, tzv. inzulinové rodiny. Tato rodina obsahuje kromě již zmíněných peptidů tři relaxiny (H1–H3) a čtyři inzulinu podobné peptidy (INSL3–INSL6)¹. I přes jejich rozdílné fyziologické funkce a poměrně nízkou sekvenční homologii si tyto peptidy zachovávají velmi podobnou terciární strukturu, na které má největší podíl zejména přítomnost šesti cysteinů v konzervovaných pozicích tvořících tři stabilizující disulfidové můstky¹.

Vzájemná strukturní podobnost inzulinu, IGF1 a IGF2 zajišťuje schopnost těchto molekul vázat se nejen na své primární receptory, ale i na receptory ostatních členů inzulinové rodiny peptidů. Těmito receptory jsou tři receptoro-

vé tyrosinkinasy, konkrétně dvě izoformy inzulinového receptoru (IR-A a IR-B) a receptor pro IGF1 (IGF1R), a strukturně zcela odlišný receptor pro IGF2 (IGF2R) (obr. 1). Například inzulin se kromě svých primárních receptorů IR-A a IR-B váže, i když slaběji, i na IGF1R. Obdobně je IGF1 schopen vázat se nejen na IGF1R, ale i na IR-A. IGF2 se váže primárně na IGF2R, stejně tak má ale poměrně vysokou afinitu k IR-A a IGF1R. Naopak na IGF2R se IGF1 váže jen minimálně a inzulin vůbec. IGF2, jehož množství je v dospělém organismu několikanásobně vyšší než množství ostatních inzulinu podobných peptidů, interaguje tedy s několika různými receptory, v důsledku čehož má tento peptid široké spektrum fyziologických účinků. Hraje roli zejména v prenatálním vývoji a růstu organismu, z patologických stavů je významným faktorem ve vzniku a progresi některých druhů rakovinného bujení a v poslední době se velmi diskutuje jeho role v centrální nervové soustavě.

2. Inzulinu podobný růstový faktor 2 (IGF2)

Produkce IGF2 v buňce je složitý proces regulovaný velmi komplexními, komplikovanými procesy. Vzhledem ke zmíněným fyziologickým účinkům tohoto peptidu vede její deregulace často ke vzniku závažných onemocnění. Poruchy exprese *Igf2* jsou často pozorovány například v nádorových tkáních závislých na IGF2. I proto lze předpokládat, že produkce IGF2 vyžaduje přísnou kontrolu. Obecný mechanismus této regulace produkce IGF2 je



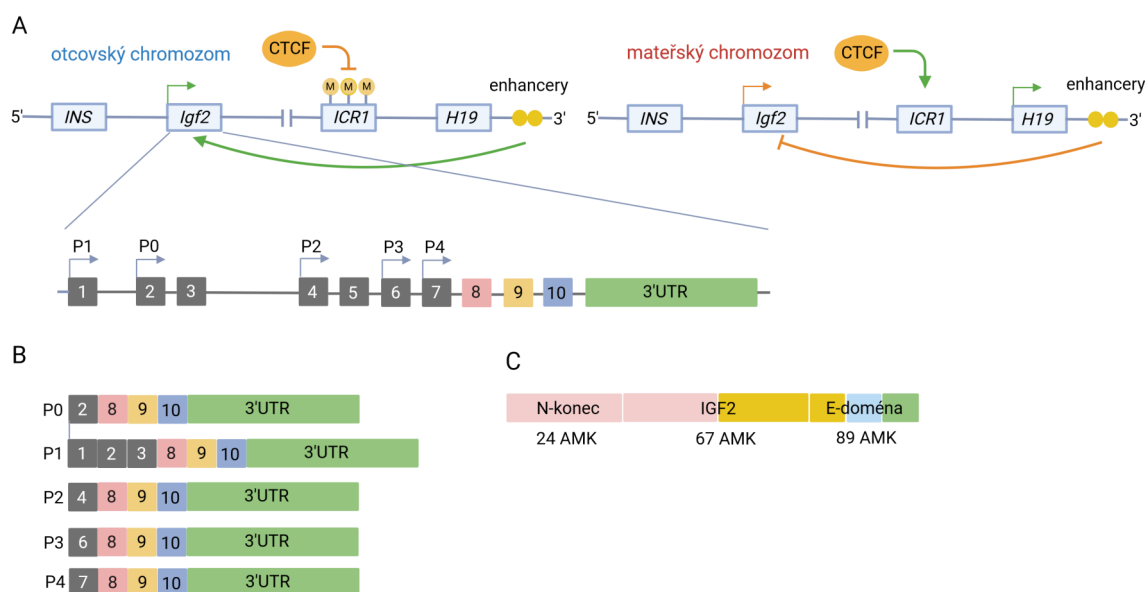
Obr. 1. **Inzulín/IGF systém.** Síla jednotlivých interakcí mezi hormony a jejich receptory je vyjádřena silou a přerušováním jednotlivých šipek

následovný. Gen *Igf2* o velikosti 30 kbp společně s genem pro inzulín (*Ins*) a neproteinogenním genem *H19* leží na krátkém raménku chromozomu 11 (11p15.5) (obr. 2A)². Obsahuje 10 exonů a 5 promotorů, ze kterých probíhá transkripce. Vzniká tak 5 různých pre-RNA, všechny však obsahují 3'UTR, netranslatovanou část, tedy sekvenci, ze které nevzniká protein, a exony 8, 9 a 10, které kódují prekurzory IGF2 (obr. 2B)³. Aktivita jednotlivých promotorů závisí na typu tkáně a vývojovém stádiu jedince⁴.

Expresí genu *Igf2* je monoalelická (probíhá pouze z otcovské alely chromozomu) a úzce souvisí s expresí zmíněného genu *H19*. Ten je rovněž exprimován pouze z jedné alely, tentokrát však z mateřské. Tento způsob regulace genové exprese je označován genomový imprinting^{3,5}. Genomový imprinting využívá methylace různých oblastí genů, která ovlivňuje vazbu zesilovače (enhanceru) a dalších DNA-vazebných proteinů. V případě *Igf2* je na otcovském chromozomu methylována oblast ICR1 (imprinting control region 1) ležící mezi *Igf2* a *H19*. Tato methylace znemožňuje vazbu proteinu transkripčního faktoru CTCF (CTCF), který tak nebrání vazbě zesilovačů a exprese genu *Igf2* probíhá⁶. Změna konformace chromatinu při vazbě zesilovačů na promotory *Igf2* zároveň znemožňuje expresi *H19*. V případě mateřského chromozomu je tomu naopak. Oblast ICR1 není methylována, nasedá na ni tedy protein CTCF, který brání vazbě zesilovačů a potlačuje tak expresi genu *Igf2*. Zároveň se nemění konformace chromatinu, čímž je umožněna exprese genu *H19* (obr. 2A)^{3,5}.

Translací mRNA vzniká 180 aminokyselin dlouhý prekurzor IGF2 (pre-pro-IGF2) složený z N-koncové signální sekvence a domén B, C, A, D, E (cit.^{3,7}). V endoplazmatickém retikulu je odštěpen N-konec, vzniká tak 156 aminokyselin dlouhý pro-IGF2 (obr. 2C). Doména E pro-IGF2 je dále glykosylována v Golgiho aparátu a pro-protein konvertasa 4 (PC4) katalyzuje štěpení peptidových vazeb za aminokyselinami v pozicích 67, 87 a 104 (cit.⁸). Vzniká tedy maturovaný 67 aminokyselin dlouhý IGF2 a dvě delší formy IGF2, souhrnně nazývané jako big-IGF2. Maturovaný IGF2 je následně sekretován do krve, kde cirkuluje v koncentraci asi 700 ng ml⁻¹ a je v naprosté většině vázán na vazebné proteiny pro IGF (IGFBP)⁹.

Terciární struktura maturovaného IGF2 byla původně odhadnuta na základě struktury inzulínu. Poprvé byla upřesněna v roce 1994 pomocí NMR (cit.¹⁰) (obr. 3). Byla potvrzena přítomnost 4 domén (B, C, A, D) (obr. 4). Doména B zahrnuje prvních 32 aminokyselin N-koncové části peptidu. S řetězcem B inzulínu sdílí 50% sekvenční homologii. Doména C hormonu IGF2 navazuje na doménu B (aminokyseliny 33–40), a je obdobou C-peptidu pro-inzulínu, který se ale v inzulínu finálně vyštěpuje. Obdobou řetězce A inzulínu je pak ve struktuře IGF2 doména A, kterou tvoří aminokyseliny 41–61. Doména D (aminokyseliny 62–67) vytváří C-konec peptidu. Stejně jako molekula inzulínu, i IGF2 obsahuje 3 disulfidové můstky, konkrétně mezi cysteiny v pozicích 9–47, 21–60 a 46–51. Strukturu dále stabilizují tři α -helixy. Dva se nacházejí v doméně A (Glu44-Arg49, Leu53-Tyr59), kde jsou vůči sobě



Obr. 2. **Regulace exprese *Igf2* genu.** A) Uspořádání genů na krátkém raménku chromozomu 11 (11p15.5) a mechanismus regulace exprese *Igf2* – genomový imprinting. *INS* – gen pro inzulin, *Igf2* – gen pro inzulinu podobný růstový faktor 2, *ICR1* – kontrolní oblast imprintingu – na otcovském chromozomu methylovaná (M), na mateřském chromozomu bez methylace, *H19* – neproteinogenní gen, CTCF – DNA vazebný protein, P0–P4 – promotory genu *Igf2*, černé boxy 1–7 – nekódující introny genu *Igf2*, barevné boxy 8, 9, 10 – exony kódující prekurzory IGF2, 3'UTR – netranslatovaná část *Igf2*; B) Transkripty (mRNA) vznikající přepisem *Igf2*; C) Translaci vznikající prekurzor IGF2 – 180 aminokyselin dlouhý pre-pro-IGF2

v antiparalelním uspořádání, jeden je pak v doméně B (Glu12-Cys21).

2.1. Vazební partneři IGF2

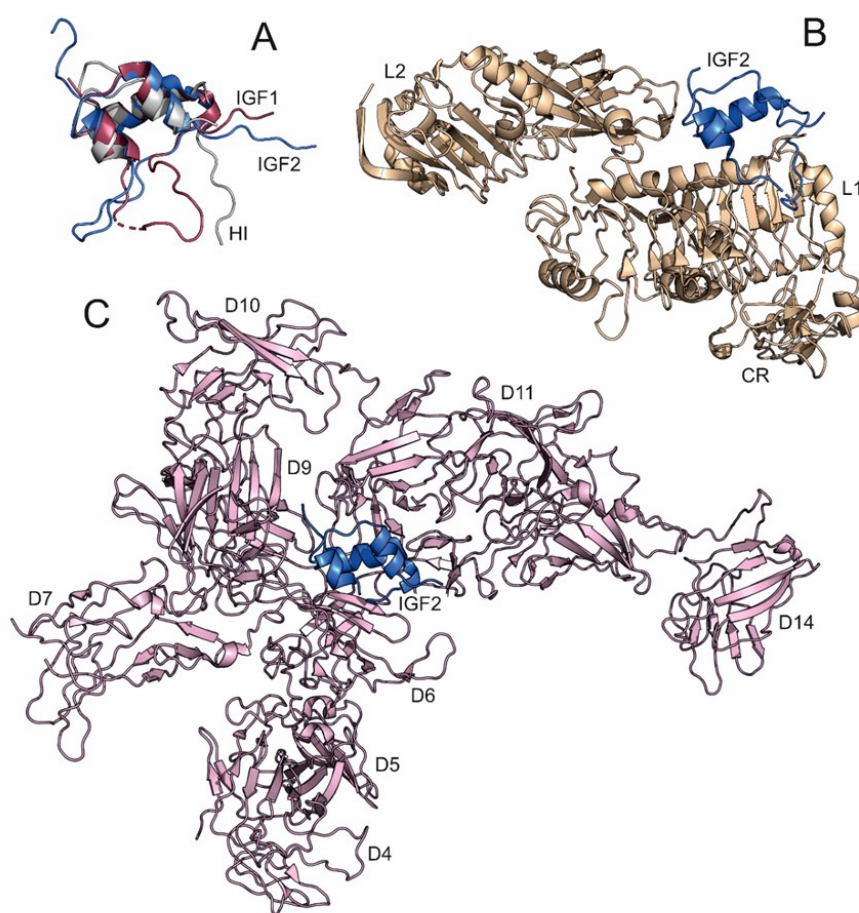
Jak již bylo řečeno, strukturní podobnost IGF2 s inzulinem a IGF1 umožňuje jeho vazbu na různé receptory inzulinu a inzulinu podobných peptidů. Díky tomu dokáže ovlivňovat různé fyziologické procesy (obr. 1). Jak jeho název napovídá, jednou z jeho hlavních funkcí je regulace růstu a vývoje tkání. Předpokládá se, že je tato jeho funkce zprostředkována prostřednictvím IGF1R, případně IR-A (cit.¹¹). Oba tyto transmembránové receptory se vyskytují na povrchu téměř všech buněk v organismu. Na IR-B se IGF2 váže poměrně slabě. Důvodem této slabé vazby je přítomnost 12 aminokyselin pocházejících z exonu 11 genu pro inzulinový receptor. Tyto aminokyseliny jsou přítomny pouze v případě IR-B, u IR-A chybí¹².

Všechny tyto receptory (IR-A, IR-B i IGF1R) jsou 2(αβ) homodimery s extracelulárními doménami zaujímajícími v apo-formě antiparalelní tvar písmene Λ (obr. 5A). Každý homodimer je složen ze dvou monomerů, přičemž každý monomer je tvořen extracelulárním α-řetězcem (130–135 kDa) a transmembránovým β-řetězcem (90–97 kDa). α-Řetězec tvoří domény L1, CR, L2, FnIII-1, FnIII-2 a α-CT, β-řetězec je tvořen doménami FnIII-2, FnIII-3 a transmembránovou a kinasovou doménou (obr. 5A, B).

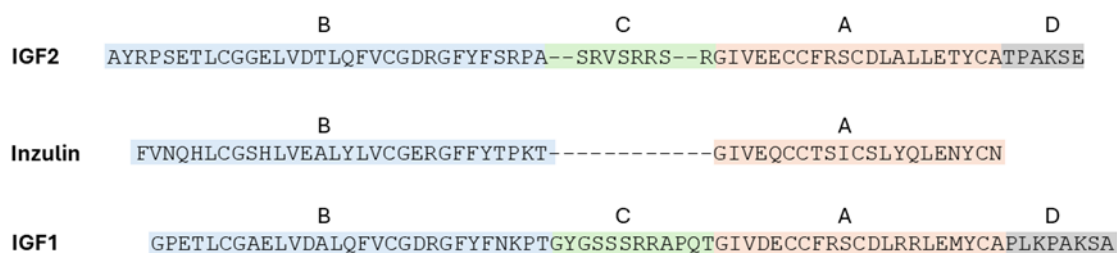
Monomerní jednotky homodimerů jsou vzájemně propojené disulfidovými můstky tvořenými cysteinovými rezidui extracelulárních α-řetězců. Receptor tak vytváří dvě ekvivalentní vazebná místa. Po obsazení i jen jednoho z nich ligandem dochází k rozsáhlé změně konformace receptoru a následně k autofosforylaci tyrosinových zbytků na tyrosinkinasové doméně receptoru uvnitř buňky (obr. 5B)¹³. Jemné rozdíly v mechanismu vazby jednotlivých ligandů s jednotlivými receptory spouští rozdílné nitrobuněčné odpovědi vedoucí k odlišným biologickým efektům (obr. 1).

Roku 2013 byla publikována první struktura komplexu inzulinu se zkrácenou formou IR-A (cit.¹⁴). Od té doby bylo publikováno mnoho struktur komplexů inzulinu nebo IGF1 s jejich příslušnými receptory v různých rozlišeních^{15–18}. V roce 2020 byla publikována struktura komplexu IGF2 s receptorem IGF1R v rozlišení 3,2 Å (cit.¹⁹), která odhalila, že vazebná místa na IGF1R pro IGF2 jsou velmi podobná vazebným místům, která se účastní interakcí inzulin:IR a IGF1:IGF1R (cit.^{13,16,20}).

Receptorem zodpovědným za kontrolu hladiny volného IGF2 v krevním řečišti je zejména IGF2R. Je to asi 300 kDa velký transmembránový glykoprotein patřící do lektinové rodiny typu P (cit.²¹) (obr. 5C). Tento receptor, nazývaný také kation-nezávislý mannos-6-fosfátový receptor, je cílovým receptorem rovněž některých 6-fosfomannosylovaných proteinů (nejčastěji lysosomálních en-



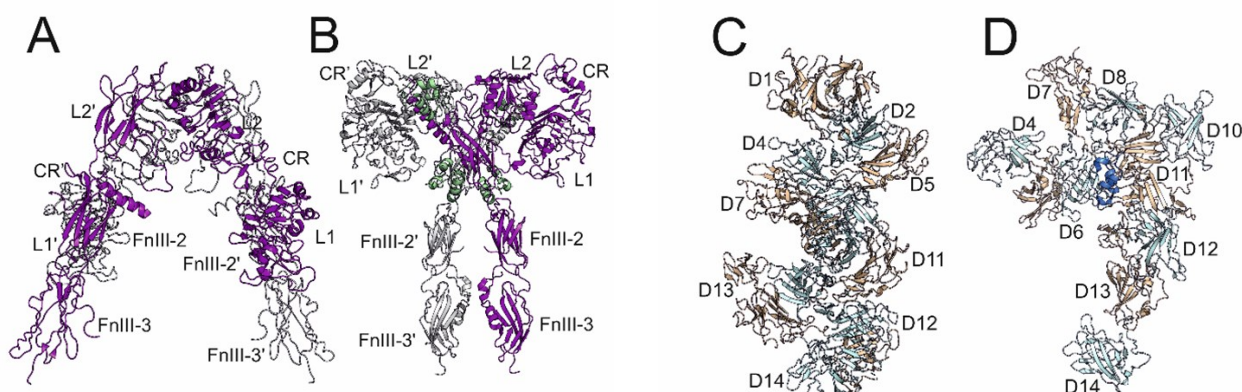
Obr. 3. Terciární struktury inzulinu, IGF1 a IGF2. (A) Překryv terciárních struktur lidského inzulinu (HI) (bílá, PDB 6SOF), IGF1 (tmavě růžová, PDB 1GZR) a IGF2 (modrá, PDB 1IGL); (B) IGF2 v komplexu s částí IGF1R (PDB 6VWI) (L1, L2 – domény bohaté na leucin, CR – doména bohatá na cystein); (C) IGF2 v komplexu s částí M6P/IGF2R (PDB 6UM2) (D4–D14 – domény 4–14 M6P/IGF2R)



Obr. 4. Primární struktura IGF2, inzulinu a IGF1. Označení, uspořádání a vzájemné porovnání jednotlivých domén

zymů). Vazbu ligandů zajišťuje 15 homologních extracelulárních domén (každá o 124–192 aminokyselinách) s 14–28 % sekvenční identitou. Domény 3, 5, 9 a 15 jsou zodpovědné za vazbu mannosylovaných glykoproteinů, doména 11 s přispěním domény 13 váže IGF2 (obr. 5D). Receptor navádí jak lysosomální enzymy (z trans-Golgiho aparátu), tak IGF2 (z buněčného povrchu) do endosomů

a lysosomů. Uvádí se, že pouze 5–10 % z celkového množství IGF2R se nachází na buněčném povrchu, zbytek cirkuluje uvnitř buněk mezi trans-Golgiho aparátem a endosomy²². Jinými slovy, receptor je s navázaným ligandem internalizován a přes časné a pozdní endosomy dopravuje ligand až do lysosomů, kde je tato molekula degradována (případ IGF2) či vykonává svou proteolytic-



Obr. 5. **Struktura inzulinového receptoru.** (A) Schématické znázornění apo-formy inzulinového receptoru (PDB 3LOH). Každý z protomerů receptoru je vyznačen jinou barvou (L1, L2 – domény bohaté na leucin, CR – doména bohatá na cystein, FnIII – doména tvořená fibronectinem typu III); (B) Aktivovaná forma IR receptoru (PDB 6PXV). Navázané molekuly inzulinu jsou vyznačeny zeleně; (C) Apo-forma IGF2R (PDB 6UM1); (D) IGF2R s navázaným IGF2 (modře) (PDB 6UM2) (D1–D14 – domény 1–14 M6P/IGF2R)

kou funkci (případ lysosomálních enzymů)²³. Samotný IGF2R je recyklován a z pozdních endosomů se vrací na buněčnou membránu či do trans-Golgiho aparátu.

Dosud bylo uveřejněno poměrně velké množství struktur různě velkých konstruktů IGF2R bez ligandu nebo s navázaným IGF2 (cit.^{21,24,25}). V roce 2020 byla publikována studie cryo-EM struktury apo-formy IGF2R (domény 4–14) i IGF2R s navázaným IGF2 (obr. 5C, 5D)²⁶. IGF2R je také schopen tvořit v plazmatické membráně dimery²⁷ a tato dimerizace může dopomáhat ke stabilizaci domény 11 s navázaným IGF2 navíc ještě s přispěním fibronectinové domény 13 (cit.²⁸).

Přesto, že IGF2R postrádá katalytickou intracelulární doménu s kinasovou aktivitou, je podle některých starších výzkumů schopen prostřednictvím receptorů spřažených s G-proteiny (GPCR) přímým nebo nepřímým způsobem iniciovat signalizaci a ovlivňovat fosforylaci proteinů zapojených do GPCR signální kaskády²⁹. V současné době je velmi intenzivně diskutována role IGF2R v centrální nervové soustavě (viz kapitola Fyziologické funkce IGF2).

Působení IGF2 a jeho biodostupnost jsou precizně regulovány jeho interakcí s rozpustnými IGF vazebnými proteiny (IGFBP). IGF vazebné proteiny udržují IGF2 v cirkulaci a dopravují ho k cílovým tkáním⁹. Dosud bylo identifikováno šest vazebných proteinů. Vazbou na některý z nich je významně prodloužen biologický poločas IGF2. Relativní afinita IGF2 k jednotlivým IGFBP je různá, ale je vyšší než afinita IGF2 k IGF1R (cit.^{9,30}). IGF2 ve vazbě na IGFBP3 a IGFBP5 může navíc tvořit mnohem větší ternární komplex s proteinem ALS (tzv. kyselou labilní podjednotkou – z angl. acide labile subunit). Tím je mnohonásobně zvýšena stabilita komplexu a prodloužen jeho biologický poločas. Odhaduje se, že volný IGF2 má biologický poločas v krevní plazmě 5–10 minut, v binárním komplexu s IGFBP kolem 30 minut a v ternárním komplexu s ALS až 16–20 hodin.

2.2. Fyziologické funkce IGF2

Zásadní roli v organismu hraje IGF2 při regulaci fetálního růstu a diferenciaci. Jeho role v dospělém organismu je už méně zřejmá, avšak na rozdíl například od hloдавců je IGF2 v lidském těle produkován během celého života, a to v mnohem vyšších koncentracích než inzulin a IGF1. Jeho hladina je striktně regulována na úrovni exprese genu i na úrovni biodostupnosti pro vazbu na receptory, což naznačuje jeho významnou funkci v lidské fyziologii. Je prokázáno, že IGF2 dokáže ovlivňovat svalovou a tukovou tkáň, kosti, vaječníky a v některých částech mozku také neurogenezi³¹. Pozměněná exprese genu pro IGF2 se může projevit patologickými stavy, jakými jsou například obezita, diabetes, syndrom polycystických ovaríí (PCOS), nemoci jater, rakovina či poruchy kognitivních funkcí. O nejvýznamnějších fyziologických funkcích se zmíníme v následujících kapitolách.

2.2.1. Fyziologický význam v růstu a vývoji

Oba IGF jsou společně s jejich membránovými receptory a IGF vazebnými proteiny klíčovými komponenty komplexního systému, který reguluje růst. Společně s růstovým hormonem jsou schopny fungovat jak v endokrinním, tak parakrinním či autokrinním módu. Jejich hladiny jsou přesně regulovány v prenatálním věku, v dětství, i v dospělosti. IGF1 reguluje růst od prenatálního období až do dospívání³², naproti tomu IGF2 hraje zásadní roli v růstu ve fetálním věku a později už růst těla ovlivňuje podle současných poznatků relativně málo, což je v kontrastu s jeho vysokými hladinami v dospělosti. I když je IGF2 syntetizován téměř ve všech orgánech, nejvíce se ho tvoří ve slinivce plodu a játrech v jakémkoliv věku³³. Růstová funkce IGF2 je zprostředkována nejvíce IGF1 receptorem, významnou roli však hraje i jeho vazba na IR-A (cit.¹¹).

Aktivace IR-A působením IGF2 byla prokázána například při podpoře obnovy nervových kmenových buněk. Tato aktivace vede k expanzi nervových progenitorových buněk. Pozitivní vliv na obnovu kmenových buněk byl pozorován i na jiných tkáních, například u střevních nebo svalových kmenových buněk^{34,35}. IGF2 navíc dokáže ovlivňovat diferenciaci adipocytů, příjem glukosy buňkami a také inzulinovou sekreci³⁶.

Jakákoliv deregulace exprese *Igf2* vede k růstovým chorobám, jako je třeba Beckwithův-Wiedemannův syndrom (BWS), způsobený ztrátou genomového imprintingu genu *Igf2* nebo Silverův-Russelův syndrom způsobený ztrátou genomového imprintingu vedlejšího genu *H19*. Navíc jsou tyto dvě choroby spojeny s vyšším výskytem dětských tumorů, jako je například Ewingův sarkom nebo Wilmsův tumor³⁷.

Důležité informace o roli IGF2, ale i IGF2R, poskytly zvířecí modely s deletovanými příslušnými geny³⁸. Vyřazení genu *Igf2* snížilo životaschopnost myších mláďat, ale způsobilo jejich menší velikost (asi 60 %) oproti kontrolním myším. Delece *Igf2r* naproti tomu způsobila větší velikost (asi 140 % velikosti normálních jedinců), životaschopnost mláďat byla ale drasticky snížena a jen velmi málo z nich přežilo, a pokud ano, tak s růstovými deformacemi. Zajímavé bylo, že současná delece obou genů, *Igf2* a *Igf2r*, vedla k normálnímu přežití myši a ke zmenšení jejich velikosti (asi na 75 %). Z výsledků se dá usoudit, že růstové efekty IGF2 při vývoji embrya jsou zprostředkovány aktivací IGF1R a IR-A a ne IGF2R. IGF2R ale váže a blokuje podstatnou část IGF2 a pokud IGF2R chybí, příliš vysoká hladina IGF2 a jeho akce přes IGF1R a IR-A způsobuje nadměrnou stimulaci růstu, malformace a snížení životaschopnosti plodu.

2.2.2. IGF2 a kancerogeneze

Zvýšená produkce IGF2 může být příčinou mnoha zhoubných nádorů dětí i dospělých. Za nadměrnou produkci IGF2 může stát mnoho různých faktorů, jako je změna methylace DNA s následnou ztrátou imprintingu, změny v expresi genů transkripčních faktorů nebo změny v posttranskripčních nebo posttranslačních modulatorech exprese genu pro IGF2 (cit.³⁹). Deregulace exprese genu pro IGF2 je velmi často zaznamenána u pacientů s rakovinou tlustého střeva a konečníku, rakovinou prsu, prostaty či plic.

Jednou z hlavních příčin vzniku a vývoje rakovinného bujení je ztráta imprintingu (LOI, z angl. loss of imprinting) *Igf2* genu. Ztrátou imprintingu dojde ke zvýšení exprese *Igf2*, buňky jsou tak vystavené vysoké hladině IGF2, což způsobuje růst tkání a podporu anti-apoptotických efektů⁴⁰. Jedním z nejčastějších onemocnění spojených s LOI *Igf2* je BWS, který se projevuje nadměrným růstem jedince a vysokým rizikem tvorby nádorů⁴¹. A až u 90 % pacientů trpících tzv. Wilmsovým tumorem (rakovinou ledvin vyskytující se v dětství) byla zaznamenána LOI *Igf2* genu⁴². LOI *Igf2* byla objevena i u mnoha dalších typů rakoviny, např. u hepatoblastomů, rakoviny plic, rakoviny děložního čípku či rakoviny varlat^{39,43,44}.

Deregulace produkce IGF2 se může projevit také při vzniku sarkomů, jako například rabdomyosarkomu (sarkomu měkkých tkání) u dětí nebo Ewingova sarkomu (maligního nádoru kostí dětí a adolescentů)⁴⁵.

IGF2 podporuje růst buněk zejména při jeho působení prostřednictvím IGF1R. Při aktivaci IGF1R pomocí IGF2 je proto umocněn vznik nádorů a tvorba metastáz. IGF2 může vznik nádorů způsobovat i při vazbě na IR-A. Tento receptor se nejčastěji vyskytuje v nediferencovaných zhoubných nádorech, kde je dokonce produkován přednostně před IGF1R (cit.^{46,47}). V těchto typech nádorů je potom IR-A hlavním receptorem, který je zodpovědný za rakovinotvorné účinky IGF2 (cit.⁴⁸).

Nesprávné posttranslační zpracování pro-IGF2 (prekurzoru IGF2) vede k navýšení hladin proforem IGF2 – již zmíněných big-IGF2. I jejich zvýšená hladina v organismu působí rakovinotvorně, bývá spojována s tvorbou masivních nebo metastatických tumorů mnohdy s váhou převyšující kilogramy⁴⁹. Hlavní nebezpečí těchto nesprávně zpracovaných proforem IGF2 spočívá velmi pravděpodobně v jejich zvýšené biodostupnosti a tedy vysokém proliferativním účinku. Formy big-IGF2 totiž vznikají v důsledku špatné nebo nepřítomné glykosylace E-domény pro-IGF2. V důsledku toho není molekula rozpoznána proteolytickými enzymy a E-doména tak není odštěpena. Tyto big-IGF2 mají pak kvůli své velikosti pozměněnou schopnost tvořit binární a ternární komplexy s IGF-vazebnými proteiny a kyselou labilní podjednotkou (ALS) a tím pádem zůstávají ve volných formách v krevním řečišti. Naopak jejich vazba na hlavní mitogenní receptory (IGF1R a IR-A) je ovlivněna pouze minimálně. Jejich biodostupnost je tak nebezpečně vysoká, což se může projevit ve vyšší proliferativní funkci^{50,51}.

Role IGF2 v progresi rakoviny je stále mnohem méně charakterizována než role inzulinu a IGF1. Existují studie dokazující přímé zapojení IGF2 v primárním vzniku nádorů, progresi rakoviny a také v imunitní odpovědi či v mechanismu rezistence organismu na léčbu. V nádorových buňkách bývá *Igf2* exprimován více než *Igf1* a působí autokrinně i parakrinně, což umocňuje jeho vliv na průběh rakovinných onemocnění. Navíc IGF2 podporuje motilitu a schopnost invaze nádorových buněk, ovlivňuje fenotyp kmenových buněk, angiogenezi a podporuje schopnost nádorových buněk skrýt se před imunitním systémem organismu (immune evasion). Všechny tyto poznatky naznačují, že je IGF2 pleiotropním promotorem metastatického šíření u nádorů⁵².

2.2.3. IGF2 v nervové soustavě

Nezanedbatelnou roli má IGF2 i v nervové soustavě. IGF2R je produkován v neuronech celého mozku, zejména ale v hipokampu, kortexu, mozečku a mozkovém kmenu⁵³. IGF2 je v centrální nervové soustavě rovněž produkován, a to v porovnání s ostatními inzulinu podobnými peptidy v relativně velkých množstvích. Jeho přítomnost byla prokázána např. v hypothalamu, hipokampu, kortexu, třetí mozkové komoře, amygdale, choroidním plexu a v leptomeningách^{54,55}. O důvodu produkce obou těchto

molekul v mozku se intenzivně diskutuje. Obě jsou zmiňovány v souvislosti s kognitivními schopnostmi jedinců, především pak s upevňováním dlouhodobé paměti. Předpokládá se i jejich zapojení do molekulární podstaty různých patologických stavů (např. psychiatrických poruch či neurodegenerativních onemocnění), jejichž symptomem je právě porucha kognitivních funkcí. Konkrétní mechanismus působení těchto molekul v mozku nejen při zmíněných patologických stavech, ale i ve zdravém organismu, je však stále z velké části neobjasněn.

Proces formování dlouhodobé paměti stojí na *de novo* expresi mRNA a syntéze proteinů. Nově vzniklé proteiny se podílí na tvorbě strukturních změn v synapsích neuronů. Právě ve formě změn v propojení synapsí v mozku jsou informace v paměti ukládány⁵⁶. Počáteční impulz k transkripci nových genů dává transkripční faktor CREB (cAMP response element binding protein). Ten reaguje na zvýšenou hladinu cAMP po stimulaci příslušné signální dráhy neurotransmiterem v postsynaptickém neuronu. CREB se dále váže na promotor genu pro C/EBPβ (CCAAT enhancer binding protein). Ten působí v jádře rovněž jako transkripční faktor. Váže se na promotory genu *Igf2*, což vede k vysoké expresi genu pro IGF2 (cit.⁵⁷). Postupně se ukázalo, že je endogenní IGF2 produkován v hipokampu nezbytný pro formování dlouhodobých vzpomínek.

Některé experimentální práce naznačily, že podání IGF2 může podporovat dlouhodobou paměť a prodlužovat uchovávání vzpomínek^{57–59}. Navíc se zdá, že podání IGF2 hlodavcům způsobuje zvýšenou produkci proteinů kódovaných tzv. časnými geny (IEG – z angl. immediate early gene)⁵⁸. Další práce na zvířatech také ukázaly, že IGF2 působí proti zapomínání v důsledku vysokého věku⁶⁰ a jeho administrací by patrně šlo zvrátit některé symptomy nemoci, jakými jsou např. Alzheimerova choroba či různé poruchy autistického spektra^{61–63}, včetně Angelmanova syndromu⁶⁴. Pozorování Cruze a spol.⁶⁴ se ovšem nepodařilo potvrdit ve studii Bergové a spol.⁶⁵, kteří periferně podávali IGF2 myším s indukovaným Angelmanovým syndromem. Výsledky Bergové a spol. ukázaly, že IGF2 nezlepšuje uchovávání dlouhodobých vzpomínek zdravých kontrolních zvířat ani modelových zvířat Angelmanova syndromu, nemá vliv na koordinaci ani motorickou či lokomotickou aktivitu zvířat a nezlepšuje jejich sociální komunikaci. Jediný, ale velmi zajímavý, dopad IGF2 na organismus zvířat byl zaznamenán při měření intenzity mozkových (konkrétně kortikálních a hipokampálních) delta vln, které se významně snižovaly již hodinu po periferním podání IGF2. Tyto vlny jsou v případě zvířat simulujících Angelmanův syndrom zvýšené a IGF2 je účinně snižuje. Podání IGF2 má tedy evidentně vliv na funkci mozku, ale o míře tohoto vlivu a molekulárním mechanismu působení na behaviorální chování se však stále diskutuje.

Jisté je, že efekty IGF2 na působení v mozku a případně na behaviorální chování jsou zprostředkované hlavně IGF2R a nikoli tyrosinkinasovými receptory ostatních inzulinu podobných peptidů (tedy IR-A, IR-B a IGF1R)

(cit.^{57,58,63}). Nově navržený mechanismus působení IGF2 přes IGF2R úzce souvisí s jeho zmíněnou schopností navádění ligandů do endosomů a následně do lysosomů – tedy s vezikulárním transportem. Alberini⁶⁶ navrhuje, že mobilizované endosomy mohou působit jako platformy pro translaci nově vznikajících mRNA. Tím může být umocněn vznik potřebných proteinů. Translace vázaná na endosomy je pro buňku vysoce výhodná. Umožňovala by vznik nových proteinů ve specifických částech buňky. Proteiny by tak přímo vznikaly v místě jejich potřeby, např. v rostoucích synapsích neuronů. Tím by IGF2 a IGF2R regulovaly proteinovou syntézu a proteinovou degradaci (lysosomální i autofagickou) a zajišťovaly by udržování stálé hladiny proteinů v buňce nezbytné pro zajištění neurální plasticity, potažmo tedy pro formování dlouhodobé paměti⁶⁶.

IGF2 figuruje i v mnohých studiích mechanismu psychiatrických a neurodegenerativních poruch. Například pacienti s Alzheimerovou chorobou mají oproti zdravým jedincům signifikantně nižší hladiny mRNA IGF2 i samotného IGF2 v mozku⁶⁷. V tomto případě se proto mluví o využití endogenního IGF2 pro léčbu této choroby. Administrace IGF2 by mohla prospívat i pacientům s Parkinsonovou chorobou, Huntingtonovou chorobou či amyotrofií laterální sklerózou⁶⁶. Všechny tyto choroby mají totiž společného jmenovatele, a sice hromadění agregátů špatně sbalených proteinů v buňkách⁶⁸. Podpoření vezikulárního transportu a potažmo tedy mechanismu degradace proteinů a vzniku nových proteinů by tento problém možná řešilo. Administrace IGF2 se nabízí i pro léčbu pacientů se schizofrenií. U schizofreniků byla totiž prokázána vysoká hladina IGFBP2 v krvi, která výrazně snižuje množství biologicky dostupného IGF2 (cit.⁶⁹). Stejně tak i syndrom fragilního X chromozomu, který je jedním z typů autismu, by mohl být léčen podáním IGF2. Jeho hladiny v hipokampu modelových myší jsou totiž prokazatelně nižší a přímé podání IGF2 významně zlepšuje kognitivní funkce mozku zvířat⁷⁰.

2.3. Analogy IGF2

Jak je zřejmé z předchozích kapitol, IGF2 je molekula zastávající v těle mnoho různých funkcí. Tyto funkce zprostředkovávají tři různé receptory – IGF1R, IR a IGF2R. Kvůli této tzv. cross-reaktivitě je velmi těžké rozlišit od sebe dopady aktivace jednotlivých receptorů při vazbě IGF2 do jejich vazebných míst.

Pro výzkum fyziologických funkcí jednotlivých receptorů a konkrétních signálních transdukci, které spouštějí, lze využít čtyři různé strategie. Zprvu je možné výzkum provádět na buněčných kulturách obsahujících jen jeden konkrétní receptor z inkriminované skupiny⁷¹. Z druhé lze vazebné místo nežádoucích receptorů blokovat specifickými protilátkami. Další možností je receptor cíleně mutovat tak, aby nebyl schopen vázat své ligandy a začtvrté lze produkovat mutované formy IGF2 s pozmeněnou aminokyselinovou sekvencí, která zaručuje selektivitu analogu pouze k jednomu typu receptoru⁷².

Nejužívanějším přístupem je čtvrtá varianta, tedy produkce analogů nativní formy IGF2. Dnes je již známá přesná struktura IGF2 i IGF2R (obr. 3C), a tedy i konkrétní aminokyselinové zbytky, které se jejich vzájemné interakce účastní. Dříve byly analogy IGF2 využívány i pro získávání informací o struktuře vazebného místa receptoru a funkcích jednotlivých domén i konkrétních aminokyselin samotného IGF2 (cit. ^{73,74}). Dnes jsou analogy využívané nejen pro výzkum specifických funkcí IGF2R (cit. ^{75,76}), ale především je atraktivní myšlenka terapeutického využití analogů IGF2. Analogy se sníženou afinitou k IR a IGF1R a zároveň se zachovanou afinitou k IGF2R by se potenciálně daly využít pro léčbu neurodegenerativních a psychiatrických onemocnění, aniž by působily přehnaný buněčný růst prostřednictvím IGF1R a IR-A.

3. Závěr

IGF2 je nesmírně zajímavým hormonem a zároveň růstovým faktorem, jehož biologická role v prenatálním růstu a vývoji je poměrně dobře prozkoumaná, ale jeho fyziologická role v dospělosti není ve srovnání s IGF1 a inzulinem příliš dobře charakterizována. To je překvapivé zejména v kontextu několikanásobně vyšších hladin IGF2 v dospělosti v porovnání s hladinami IGF1 a inzulinu. Z tohoto pohledu je IGF2 molekulou vhodnou pro bližší objasnění jeho dalších fyziologických funkcí, a to zejména v mozku, kde by mohl být odpovědný za udržování normálních kognitivních funkcí. Molekulární mechanismus jeho působení, a to zejména skrze vazbu na IGF2R je ale zatím stále nejasný a bude třeba dalšího intenzivního výzkumu pro objasnění role IGF2 v organismu a pro případný vývoj terapeutik na bázi tohoto hormonu.

Seznam zkratk

IGF2	Inzulinu podobný růstový faktor 2
<i>Igf2</i>	Gen pro inzulinu podobný růstový faktor 2
IGF2R	Receptor pro inzulinu podobný růstový faktor 2
<i>Igf2r</i>	Gen receptoru pro inzulinu podobný růstový faktor 2
IR-A	Inzulinový receptor – izoforma A
IR-B	Inzulinový receptor – izoforma B
<i>Ins</i>	Gen pro inzulin
<i>H19</i>	Neproteinogenní gen <i>H19</i>
3'UTR	3' netranslatovaná část genu (z angl. 3' untranslated region)
ICR1	Kontrolní oblast imprintingu 1 (z angl. imprinting control region 1)
CTCF	Transkripční represor CTCF
PC4	Pro-protein konvertasa 4
IGFBP	Vazebné proteiny inzulinu podobných růstových faktorů
GPCR	Receptor spřažený s G-proteinem (z angl. G-protein coupled receptor)
Cryo-EM	Kryoelektronová mikroskopie

ALS	Kyselá labilní podjednotka (z angl. acid-labile subunit)
PCOS	Syndrom polycystických ovarií
LOI	Ztráta imprintingu (z angl. loss of imprinting)
CREB	cAMP response element binding protein
C/EBPβ	CCAAT zesilovací vazebný protein β (z angl. CCAAT enhancer binding protein β)
IEG	časné geny (z angl. immediate early gene)

Tento článek byl podpořen grantem GAČR 23-05805S, Národního ústavu pro výzkum metabolických a kardiovaskulárních onemocnění ČR (program EXCELES, projekt LX22NPO5104, financovaný Evropskou unií – Next Generation EU) a Akademií věd ČR (výzkumný záměr RVO:6138963).

LITERATURA

- Shabanpoor F., Separovic F., Wade J. D., v knize: *Vitamins and Hormones Insulin and Igfs* (Litwack G., ed.), 80. díl, str. 1. Elsevier Academic Press Inc., San Diego 2009.
- Brissenden J. E., Ullrich A., Francke U.: *Nature* 310, 781 (1984).
- Sélénou C., Brioude F., Giabicani E., Sobrier M. L., Netchine I.: *Cells* 11, 1886 (2022).
- de Pagter-Holthuizen P., van Schaik F. M., Verduijn G. M., van Ommen G. J., Bouma B. N., Jansen M., Sussenbach J. S.: *FEBS Lett.* 195, 179 (1986).
- Reik W., Murrell A.: *Nature* 405, 408 (2000).
- Phillips J. E., Corces V. G.: *Cell* 137, 1194 (2009).
- Rotwein P.: *J. Biol. Chem.* 293, 4324 (2018).
- Qiu Q., Basak A., Mbikay M., Tsang B. K., Gruslin A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 11047 (2005).
- Forbes B. E., McCarthy P., Norton R. S.: *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 3, 38 (2012).
- Terasawa H., Kohda D., Hatanaka H., Nagata K., Higashihashi N., Fujiwara H., Sakano K., Inagaki F.: *EMBO J.* 13, 5590 (1994).
- Morrione A., Valentinis B., Xu S. Q., Yumet G., Louvi A., Efstratiadis A., Baserga R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 3777 (1997).
- Ye L., Maji S., Sanghera N., Gopalasingam P., Gorbunov E., Tarasov S., Epstein O., Klein-Seetharaman J.: *Drug Discovery Today* 22, 1092 (2017).
- Li J., Choi E., Yu H., Bai X.: *Nat. Commun.* 10, 4567 (2019).
- Menting J. G. a 16 spoluautorů: *Nature* 493, 241 (2013).
- Scapin G., Dandey V. P., Zhang Z., Prosise W., Hruza A., Kelly T., Mayhood T., Strickland C., Potter C. S., Carragher B.: *Nature* 556, 122 (2018).
- Uchikawa E., Choi E., Shang G., Yu H., Bai X. C.: *eLife* 8, e48630 (2019).
- Wu C., Huang X., Dong F., Tang W., Shi J., Lu X., Shu Q., Zhang X.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 636, 121 (2022).

18. Zhang X., Wu C., Wei T., Lu Y., Liu C., Zhang J.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **618**, 148 (2022).
19. Xu Y., Kirk N. S., Venugopal H., Margetts M. B., Croll T. I., Sandow J. J., Webb A. I., Delaine C. A., Forbes B. E., Lawrence M. C.: *Structure* **28**, 786 (2020).
20. Gutmann T., Schafer I. B., Poojari C., Brankatschk B., Vattulainen I., Strauss M., Coskun U.: *J. Cell Biol.* **219**, e201907210 (2020).
21. Brown J., Esnouf R. M., Jones M. A., Linnell J., Harlos K., Hassan A. B., Jones E. Y.: *EMBO J.* **21**, 1054 (2002).
22. El-Shewy H. M., Luttrell L. M.: *Vitam. Horm.* **80**, 667 (2009).
23. Brown J. a 10 spoluautorů: *EMBO J.* **27**, 265 (2008).
24. Olson L. J., Yammani R. D., Dahms N. M., Kim J. J.: *EMBO J.* **23**, 2019 (2004).
25. Williams C. a 15 spoluautorů: *Science* **338**, 1209 (2012).
26. Wang R., Qi X., Schmiede P., Coutavas E., Li X.: *Sci. Adv.* **6**, eaaz1466 (2020).
27. Byrd J. C., Park J. H., Schaffer B. S., Garmroudi F., MacDonald R. G.: *J. Biol. Chem.* **275**, 18647 (2000).
28. Williams C., Rezgui D., Prince S. N., Zaccheo O. J., Foulstone E. J., Forbes B. E., Norton R. S., Crosby J., Hassan A. B., Crump M. P.: *Structure* **15**, 1065 (2007).
29. El-Shewy H. M., Johnson K. R., Lee M. H., Jaffa A. A., Obeid L. M., Luttrell L. M.: *J. Biol. Chem.* **281**, 31399 (2006).
30. Clemmons D. R.: *J. Mol. Endocrinol.* **61**, T139 (2018).
31. Alberini C. M., Chen D. Y.: *Trends Neurosci.* **35**, 274 (2012).
32. Savage M. O., Burren C. P., Rosenfeld R. G.: *Clin. Endocrinol. (Oxford, U. K.)* **72**, 721 (2010).
33. Sacks D. A.: *Curr. Diabetes Rep.* **4**, 281 (2004).
34. Ziegler A. N. a 12 spoluautorů: *Stem Cell Rep.* **12**, 816 (2019).
35. Florini J. R., Ewton D. Z., Magri K. A.: *Annu. Rev. Physiol.* **53**, 201 (1991).
36. Alfares M. N., Perks C. M., Hamilton-Shield J. P., Holly J. M. P.: *Am. J. Physiol.: Endocrinol. Metab.* **315**, E1098 (2018).
37. Rancourt R. C., Harris H. R., Barault L., Michels K. B.: *FASEB J.* **27**, 3335 (2013).
38. Louvi A., Accili D., Efstratiadis A.: *Dev. Biol.* **189**, 33 (1997).
39. Brouwer-Visser J., Huang G. S.: *Cytokine Growth Factor Rev.* **26**, 371 (2015).
40. Gallagher E. J., LeRoith D.: *Curr. Diabetes Rep.* **10**, 93 (2010).
41. Abi Habib W. a 10 spoluautorů: *Hum. Mutat.* **38**, 105 (2017).
42. Ravenel J. D., Broman K. W., Perlman E. J., Niemitz E. L., Jayawardena T. M., Bell D. W., Haber D. A., Uejima H., Feinberg A. P.: *J. Natl. Cancer Inst.* **93**, 1698 (2001).
43. McCann A. H., Miller N., O'Meara A., Pedersen I., Keogh K., Gorey T., Dervan P. A.: *Hum. Mol. Genet.* **5**, 1123 (1996).
44. Morison I. M., Reeve A. E.: *Mol. Med. Today* **4**, 110 (1998).
45. Mancarella C., Morrione A., Scotlandi K.: *Cells* **10**, 2075 (2021).
46. Wang Y., Hua S., Tian W., Zhang L., Zhao J., Zhang H., Zhang W., Xue F.: *Gynecol. Oncol.* **125**, 734 (2012).
47. Belfiore A., Frasca F., Pandini G., Sciacca L., Vigneri R.: *Endocr. Rev.* **30**, 586 (2009).
48. Pandini G., Frasca F., Mineo R., Sciacca L., Vigneri R., Belfiore A.: *J. Biol. Chem.* **277**, 39684 (2002).
49. Dynkevich Y. a 13 spoluautorů: *Endocr. Rev.* **34**, 798 (2013).
50. Potalitsyn P. a 11 spoluautorů: *Commun. Biol.* **6**, 863 (2023).
51. Greenall S. A., Bentley J. D., Pearce L. A., Scoble J. A., Sparrow L. G., Bartone N. A., Xiao X., Baxter R. C., Cosgrove L. J., Adams T. E.: *J. Biol. Chem.* **288**, 59 (2013).
52. LeRoith D., Roberts C. T., Jr.: *Cancer Lett.* **195**, 127 (2003).
53. Hawkes C., Kar S.: *J. Comp. Neurol.* **458**, 113 (2003).
54. Bondy C., Werner H., Roberts C. T., Jr., LeRoith D.: *Neuroscience* **46**, 909 (1992).
55. Couce M. E., Weatherington A. J., McGinty J. F.: *Endocrinology* **131**, 1636 (1992).
56. Bailey C. H., Kandel E. R.: *Annu. Rev. Physiol.* **55**, 397 (1993).
57. Chen D. Y., Stern S. A., Garcia-Osta A., Saunier-Rebori B., Pollonini G., Bambah-Mukku D., Blitzer R. D., Alberini C. M.: *Nature* **469**, 491 (2011).
58. Stern S. A., Kohtz A. S., Pollonini G., Alberini C. M.: *Neuropsychopharmacology* **39**, 2179 (2014).
59. Agis-Balboa R. C. a 11 spoluautorů: *EMBO J.* **30**, 4071 (2011).
60. Steinmetz A. B., Johnson S. A., Iannitelli D. E., Pollonini G., Alberini C. M.: *Neurobiol. Aging* **44**, 9 (2016).
61. Mellott T. J., Pender S. M., Burke R. M., Langley E. A., Blusztajn J. K.: *PLoS One* **9**, e94287 (2014).
62. Pascual-Lucas M., Viana da Silva S., Di Scala M., Garcia-Barroso C., González-Aseguinolaza G., Mulle C., Alberini C. M., Cuadrado-Tejedor M., Garcia-Osta A.: *EMBO Mol. Med.* **6**, 1246 (2014).
63. Adam B. S., Sarah A. S., Amy S. K., Giannina D., Cristina M. A.: *J. Neurosci.* **38**, 1015 (2018).
64. Cruz E., Descalzi G., Steinmetz A., Scharfman H. E., Katzman A., Alberini C. M.: *Autism Res.* **14**, 29 (2021).
65. Berg E. L., Petkova S. P., Born H. A., Adhikari A., Anderson A. E., Silverman J. L.: *Mol. Autism* **12**, 59 (2021).
66. Alberini C. M.: *Trends Neurosci.* **46**, 488 (2023).

67. Steen E., Terry B. M., Rivera E. J., Cannon J. L., Neely T. R., Tavares R., Xu X. J., Wands J. R., de la Monte S. M.: *J. Alzheimer's Dis.* 7, 63 (2005).
68. Soto C.: *Nat. Rev. Neurosci.* 4, 49 (2003).
69. Zhang X. a 10 spoluautorů: *J. Clin. Psychiatry* 74, e287 (2013).
70. Pardo M., Cheng Y., Velmeshev D., Magistri M., Eldar-Finkelman H., Martinez A., Faghihi M. A., Jope R. S., Beurel E.: *JCI Insight* 2, e91782 (2017).
71. Tally M., Enberg G., Li C. H., Hall K.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 147, 1206 (1987).
72. Sakano K., Enjoh T., Numata F., Fujiwara H., Marumoto Y., Higashihashi N., Sato Y., Perdue J. F., Fujita-Yamaguchi Y.: *J. Biol. Chem.* 266, 20626 (1991).
73. Roth B. V., Bürgisser D. M., Lüthi C., Humbel R. E.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 181, 907 (1991).
74. Francis G. L., Aplin S. E., Milner S. J., McNeil K. A., Ballard F. J., Wallace J. C.: *Biochem. J.* 293, 713 (1993).
75. Rosenthal S. M., Hsiao D., Silverman L. A.: *Endocrinology* 135, 38 (1994).
76. Hawkes C., Jhamandas J. H., Harris K. H., Fu W., MacDonald R. G., Kar S.: *J. Neurosci.* 26, 585 (2006).

T. Turnovská, J. Jiráček, and L. Žáková (*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic*): **IGF2: Overlooked Peptide from Insulin-Like Family of Hormones with Great Therapeutical Potential**

Insulin-like growth factor 2 (IGF2), along with several other insulin-like peptides, belongs to an evolutionarily conserved family of signalling molecules essential for normal cell proliferation and brain development. Previous studies have mainly focused on its role in embryonic development and carcinogenesis. In recent years, new insights revealed the role of IGF2 in the central nervous system, particularly its importance in learning, memory consolidation and enhancement. Despite the still not fully explored physiological role of IGF2, in this article we aim to describe and explain its known functions in more detail and discuss its potential uses, including its possible application in the treatment of neurodegenerative diseases.

Keywords: IGF2, insulin, insulin receptor, IGF2 receptor, carcinogenesis, neurodegenerative diseases, embryogenesis

Acknowledgements

This project was supported by a grant GAČR 23-05805S, National Institute for Research of Metabolic and Cardiovascular Diseases of the Czech Republic (Program EXCELES, Project LX22NPO5104, funded by the European Union-Next Generation EU) and by the Czech Academy of Sciences (Research Project RVO:6138963).



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

POČÁTKOVÉ CHEMIE STEROIDŮ V ČESKÝCH ZEMÍCH

PAVEL DRAŠAR

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika
drasarp@vscht.cz

Došlo 12.3.24, přijato 11.4.24.

Výzkum steroidů v České republice má dlouhou tradici a tento článek si dovoluje shrnout nejpodstatnější detaily a informace, které si autor pamatuje a které se mu podařilo nalézt.

Klíčová slova: historie výzkumu steroidů v České republice, steroidy, suroviny

Tento časopis před časem publikoval článek *První půlstoletí steroidní chemie*¹, který je však orientován pouze na oddělení steroidů ÚOCHB a nezabývá se řadou chemiků a pracovišť, zúčastněných v této oblasti bádání v Čechách, stojících za zmínku. Pokusíme se to napravit.

Pohled do databáze Chemical Abstracts / SciFinder napoví, že před zformováním skupiny chemiků, jimž dal František Šorm za úkol rozvinout chemii steroidů, se ze syntetického hlediska, v Československu neudálo mnoho. Několik prací se zabývalo steroidy, leč spíše z hlediska biologických a lékařských aplikací. Z našich chemických otců zakladatelů z oboru chemie přírodních látek se zde podepsali např. František Šantavý, Jan Škoda a další.

Obr. 1. Šantavý F.²Obr. 2. Škoda J.³

O stereoidech se v rámci akcí chemické společnosti dosti přednášelo a Chemické listy a jejich předchůdcové přinášely o nich referáty, tak jako např. brněnský chemik Josef Frejka, který se mj. zabýval chemií přírodních látek, publikoval práci o chemii steroidů⁴ v roce 1940. Steroidy se zabýval v Brně na Masarykově universitě též Jaromír Hadáček, který tam dokonce vedl předmět Chemie steroidů⁵. Hadáček se zabýval steroidy i experimentálně a publikoval o nich již od roku 1935 (cit.⁶) řadu prací, potažmo

Obr. 3. Frejka J.⁸Obr. 4. Hadáček J.⁹

z oblasti izolace z přírodního materiálu a úprav přírodních steroidů. Se steroidy pracoval v padesátých letech experimentálně Jiří Janda z Ústavu pro matku a dítě⁷.

Po skončení války vznikl, podle neautorizovaného textu¹⁰, jehož autorem je zřejmě Antonín Holý, na Vysoké škole chemicko-technologické inženýrství (VŠCHTI, tehdy součástí Českého vysokého učení technického v Praze) pod vedením Františka Šorma Ústav technologie

Obr. 5. Šorm F.³

lucifernin organických a výbušných (později Ústav technologie látek organických, a nakonec Ústav organické technologie), který se stal jádrem Ústředního ústavu chemického. Ústřední ústav chemický vznikl jako jeden ze sedmi ústavů základního výzkumu při Ústředí vědeckého výzkumu v roce 1950. Po rozhodnutí o založení ČSAV byl do této

instituce včleněn jako Ústav organické chemie ČSAV; ředitelem se opět stal František Šorm. Ústřední ústav chemický sídlil na Praze 6 v komplexu vybudovaném původně pro potřeby Výzkumných ústavů zemědělských, tehdy s adresou Na Cvičišti (dnes ÚOCHB AV ČR; Flemingovo náměstí 2).

Skupina chemiků kolem Františka Šorma, zabývající se steroidy na VŠCHT ČVUT, a od roku 1950 již v Laboratoři steroidů¹² v Ústředním ústavu chemickém, z počátku zahrnovala doktorandku Helenu Dykovou (později Ústav pro péči o matku a dítě) a postupně přibrala Václava Černého, Ludvíka Láblera, Želimíra Procházku, Jiřího Horu, Jana Fajkoše, posléze se přidruživších Jiřího Josky, Vladimíra Schwarze, Jaromíra Kučery, Vlastimila Šandy, a dalších. Vedoucím skupiny byl F. Šormem ustanoven V. Černý¹³. Oddělení intenzivně spolupracovalo s praxí a vypracovalo výrobní postupy pro výrobu steroidních léčiv v ústecké Chemopharmě (Součást Spofy Praha).

Hezký pohled je na to, za co byli pracovníci laboratoře na začátku její existence postupně odměňováni, akademik Šorm o to zřejmě pečoval. Schwarz zde zpočátku rozvíjel chemii steroidních sapogeninů, za což byl odměněn ČSAV¹⁴. Lábler a Kasal byli odměněni ČSAV za syntézy 18-substituovaných steroidů¹⁵ a Hora za deaminace 18-aminosteroidů¹⁶. Lábler studoval i mikrobiální hydroxylace steroidů. Procházka se věnoval mj. chromatografii steroidů (mj. s Láblrem, Kučerou a Verešem), izolaci

látek z přírodního materiálu, enzymatické hydroxylaci a spolu s Šandou mj. problematice kyseliny askorbové, za což též obdrželi odměnu ČSAV¹⁷. Šanda se věnoval též bromderivátům steroidů. Kučera byl odměněn ČSAV za práce týkající se oxidace steroidů¹⁸. V roce 1957 se Černý a Fajkoš stali laureáty státní ceny Klementa Gottwalda za vynikající práce v oboru steroidů a alkaloidů¹⁹. Fajkoš dostal v roce 1959 odměnu ČSAV za přípravu analog steroidních hormonů a příspěvek ke studiu stereochemie steroidů²⁰. Pracovníci Laboratoře/Oddělení byli též redaktory časopisu Steroids nakladatelství Elsevier. Pracovníci Laboratoře/Oddělení přispěli autorsky ke vzniku 1296-stránkové „bible steroidářů“, unikátní monografie o konstituci, syntéze, analýze a izolaci i biochemii steroidních sloučenin, postihující také vztahy mezi farmakologickými účinky a strukturou a totální syntézy alicyklických steroidů, vydané již v roce 1960 (cit.²¹). Není bez zajímavosti, že podle tehdejší praxe na ÚOCHB, publikovali steroidáři v Chemických listech práci česky a v Collection ve světovém jazyce. Fajkoš byl první steroidář, kdo publikoval práci bez spoluautorství Šorma²² ba i v zahraničním časopise²³.

V šedesátých letech Ludvík Lábler proslul zejména jako teoretik a propagátor chromatografie na tenké vrstvě²⁴, který po roce 1968 skončil ve Švýcarsku (CIBA) a Jiří Hora, též v roce 1968 odešel a putoval přes Rakousko a po ročním působení v Anglii na universitě v Londýně skončil u firmy Unilever PLC v Holandsku, kde pracoval v oblasti detergentů. Ostatní jmenovaní pracovali do konce své chemické kariéry na ÚOCHB. Někteří z nich kromě vědecké práce dlouhá léta zásobovali americkou firmu Trevora Arendse „Steraloids“ na míru syntetizovanými steroidy. Po V. Černém vedl oddělení chemie steroidů Alexander Saša Kasal²⁵. Skupina většinu svých prací publikovala v sérii „On Steroids“, kde bylo publikováno od první práce série od F. Šorma²⁶ přes 400 publikací. Po ukončení série v 90. letech minulého století publikovali členové týmu ještě další desítky prací. Široký rozsah syntetické chemie publikované touto skupinou lze stěží několika slovy charakterizovat, za zmínku stojí i komická příhoda, kdy vedoucí skupiny nedovolil mladému chemikovi zahájit syntézu, tehdy nového, brassinosteroidu²⁷, do kterého syntézy se sám později pustil²⁸.

Obr. 6. Černý V.¹¹Obr. 7. Fajkoš J.³Obr. 8. Procházka Ž.³Obr. 9. Joska J.³

Obr. 10. Šanda V.

Obr. 11. Kasal A.²⁵

Obr. 12. Chodounská H.

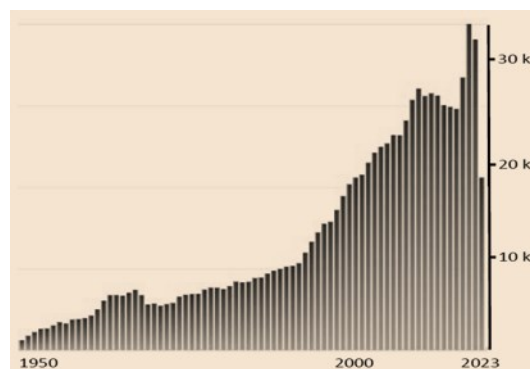
Kasal s Chodounskou popisují jako prvou „steroidní“ publikaci práci F. Šorma a H. Dykové²⁹ „*On B-nor-cholesterol*“, s afiliací VŠCHT. Ještě rok před tím publikoval František Šorm práci²⁶ „*A contribution to the oxidation of cholesterol acetate*“, s afiliací Spolek pro chemickou a hutní výrobu v Praze-Vysočanech, která byla retroaktivně zařazena do devícté série „On Steroids“.



Obr. 13. Havel M.

Ve své stati Kasal s Chodounskou také pomíjejí podskupinu oddělení chemie steroidů založenou kolem roku 1980 pro Miroslava Havla, který se vrátil z Moskvy, kam odešel z ÚOCHB po roce 1975. V Moskvě pracoval řadu let u I. V. Torgova a S. N. Anančenko³⁰ v oblasti mj. totální syntézy steroidů. Je zde vidět zřejmý zájem na posílení zdrojové základny pro český chemický a farmaceutický průmysl paralelně s tím, co se dělo v šedesátých a sedmdesátých letech dvacátého století na pracovištích kolem Spofy (viz dále).

Tato podskupina sice neuspěla v oblasti totální syntézy steroidů, oblastí Havlovy moskevské tematiky (čemuž se věnovala několik let), ale podílela se na více než sedmdesáti „devíctých steroidních“ pracích, dále pak pracovala na izolaci a využití kardioglykosidů, syntéze neurosteroidů, steroidních haptenu, vyvinula syntézy supramolekulárních synthonů a stužek se steroidy. Kromě jiného byl Havel v osmdesátých letech i vedoucím Odboru přírodních a technických věd oddělení školství a vědy ÚV KSČ (cit.³¹) a ředitel Úřadu prezidia ČSAV (cit.³²), z kterýchžto pozic „ÚOCHaBu“ mnohokrát vydatně pomohl.



Obr. 14. Roční počet publikací ve WoS na dotaz „steroid“

Celá skupina chemie steroidů byla na přelomu století rozkulačena, neboť „chemie steroidů“ se tehdy zdála radě aktivistů neperspektivní a nevzrušivá, a zbylo z ní torzo, v podobě zmíněných^{1,25} Amazonek (H. Chodounská, Slavíková B., Kudová E.). Uvedený drobný omyl těchto „hodnotitelů“ je ilustrován pohledem do WoS (obr. 14). Úhrnem WoS odpovídá dnes na dotaz „cholesterol* AND Czech*“ více než 3500 citacemi a na „steroid* AND Czech*“ více než 4000 citacemi.

Na ÚOCHB se kromě oddělení vedeného V. Černým zabývali steroidy, nanejvýš ekdy steroidy a vztahem isoprenoidy a hmyz, i entomologové a terpenáři (K. Sláma³³, J. V. Jizba³⁴, J. Harmatha, J. Vrkoč³⁵, K. Stránský,

Obr. 15. Sláma K.³⁹

Obr. 16. Harmatha J.

Obr. 17. Herout V.³Obr. 18. Souček M.³

M. Streibl³⁶ a další vedení nejprve F. Šormem a po jeho vynuceném odchodu do důchodu³⁷ v roce 1973 Vlastimilem Heroutem a skupina Milana Součka (viz např.³⁸, mj. steroidy z tkání dubu).

Je potřeba vidět, že se pole steroidů v Praze obdělávala i jinde než v Dejvicích. Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii (VÚFB) vznikl v roce 1951 z Výzkumného a kontrolního ústavu SPOFA, který byl vytvořen z výzkumných pracovišť několika výrobních závodů převážně v pražském regionu⁴⁰. Část jeho pracovníků se experimentálně zabývala steroidy, najmě jejich mikrobiální transformací (A. Čapek, O. Hanč, M. Protiva, V. Bumba, V. Schwarz a další). V roce 1952 byl v Praze též založen v Hloubětíně Výzkumný ústav léčivých rostlin (VÚLERO; v roce 1960 přejmenován na Výzkumný ústav přírodních léčiv (VÚPL)⁴¹ a roku 1967 amalgamován do VÚFB)⁴², jehož pracovníci se experimentálně zabývali steroidy (S. Heřmánek, K. Syhora a další). Pracovníci těchto dvou institucí, byvše vzájemně propleteni, jen v časopise Collection of Czechoslovak Chemical Communications publikovali v letech 1956–1973 přes šedesát odborných sdělení o steroidech. Je zajímavé, že originální léčiva vyvinutá K. Syhorou ve VÚPL (superlutin a chlor-superlutin) vůbec nejsou na publikovaném seznamu originálních látek vyvinutých VÚFB (cit.⁴²).

Problematickou surovinovou základnu pro výrobu steroidních hormonů dokonce H. Bočková a M. Šmíd z VÚFB široce rozebrali v časopise Československá farmacie⁴³. Je nicméně pozoruhodné, že vůbec neuvádějí práce českých autorů, na rozdíl od přehledu Protivova⁴⁴, potažmo z výše citovaných pracovišť kolem Spofy a VÚFB, neboť tam probíhaly rozsáhlé studie možností získávání steroidních surovin, zejména mikrobiálním odbouráváním bočního řetězce, z přírodních surovin a potravinářských odpadů, jako byl tálový olej a semena rajských jablíček, vody po praní ovčí vlny a podobně. Problematickou výzkumu steroidů v VÚLERO-VÚPL popsal podrobně K. Syhora⁴⁵. Zde čteme, že do roku 1957 byl jedinou „domácí“ steroidní surovinou cholesterol z živočišné mozkové a míšní tkáně, který byl přeměňován ve velmi nízkém výtěžku kolem 8 % na androst-5-en-3 β -ol-17-on (TDA), který byl zdro-

jem pro další syntézy steroidů. Teprve po roce 1957 zahájil VÚPL ve spolupráci s ÚOCHB ČSAV (cit.⁴⁶) práce na degradaci postranního řetězce solasodinu a přeměně na 3 β -acetoxy-pregna-5,16-dien-20-on, který sloužil jako surovina pro další syntézy steroidních léčiv. Později byly používány podobně i diosgenin, tigogenin a hekogenin. Tak bylo v padesátých letech minulého století na základě postupů z VÚPL, ÚOCHB ČSAV a VÚFB vyráběno u nás více než 15 steroidních léčiv ve firmě Spofa.

Chemii steroidů se věnoval mj. i Karel Vereš⁴⁷ z Isotopové laboratoře Biologického ústavu ČSAV. Zabýval se mj. deriváty steroidů, používanými ke konstrukci imunoanalytických souprav.

Experimentálně se pracemi o polarografii steroidů zapojili též pracovníci Polarografického ústavu Akademie věd (P. Zuman, J. Teryngl, M. Březina, V. Černý, J. Volke a další; dnes ÚFCH JH), Masarykovy univerzity v Brně (V. Morávek⁵⁰, N. Černíková⁵¹, a další) a Palackého univerzity v Olomouci (J. J. Nosek⁵² a další).

V roce 1957 byl založen v Praze Endokrinologický ústav a jeho ředitel Karel Šilink angažoval čerstvě dostudovaného organického chemika Luboslava Stárku⁵⁵, který již v roce 1959 začal publikovat experimentální práce o steroidech a budovat kolektiv, který s ním tuto práci rozvíjel (R. Hampl, M. Bičíková, O. Lapčík a další). Sám Stárka publikoval převážně o problematice metabolicky aktivních steroidů přes 1000 prací (z celé laboratoře jich vyšlo přes 2000). Stárkův blízký spolupracovník z III. interní kliniky Fakulty všeobecného lékařství UK v Praze Vratislav Schreiber za objev tzv. endogenního digitalisového faktoru, za nějž považoval hydroxylovaný steroid, dostal dokonce Státní cenu.

Delší dobu se chemii steroidů věnovali ve firmě Galena v Opavě (později IVAX a TEVA; L. Cvak⁵⁶ a další). Zejména zde rozvinuli výrobu hormonů, ekdysteroidů, kardioglykosidů a dalších (o tom však více jinde⁵⁷).

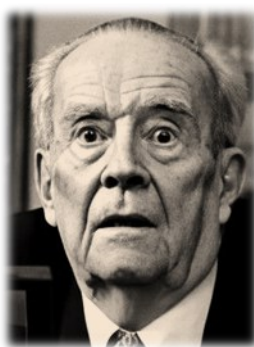
Příspěvek českých chemiků, biochemiků a biologů ke studiu problematiky je nemalý, jak již psali Kasal s Chodounskou¹ a zaslouží si ocenění zejména pro „staré bardy“, kteří budovali tuto oblast chemie přechasto s nebohatými prostředky a vybavením. Je nabíledni, že na zákla-

Obr. 19. Vereš K.⁴⁸Obr. 20. Protiva M.⁴⁹Obr. 21. Zuman P.⁵³

Obr. 22. Volke J.



Obr. 23. Stárka L.

Obr. 24. Schreiber V.⁵⁴

Obr. 25. Cvak L.

dě bohatých „počátků“ kvetla a bude kvést chemie steroidů nejen na již zmíněných, ale i na dalších pracovištích.

Starší fotografie byly zpracovány programem MyHeritage⁵⁸. Fotografie bez citace zdroje jsou z archivu autora.

LITERATURA

- Kasal A., Chodounská H.: Chem. Listy 108, 399 (2014).
- Anonym: Hanácká Drbna 8. prosince 2016.
- Archiv ÚOCHB AV ČR Praha.
- Frejka J.: Chem. Listy Vedu Prum. 34, 272 (1940).
- Seznam přednášek, které se budou konati na Masarykově universitě v Brně, Masarykova universita, Brno 1947.
- Hadáček J., Fink F.: Cas. Cesk. Lek. 15, 206 (1935).
- Janda J.: Cas. Lek. Cesk. 91, 21 (1952).
- Archiv Masarykovy univerzity; <https://www.archiv.muni.cz/historie-masarykovy-univerzity/osobnosti/historie-rektoru-a-vedeni/69074-josef-frejka>, staženo 18. 9. 2023.
- Hankovec M., v knize: *Významní rodáci Strakonicka*, str. 89. Nákladem vlastním, Strakonice 2005.
- Akademický bulletin AV ČR, <http://abicko.avcr.cz/2013/11/15/>, staženo 14. 1. 2019.
- Archiv P. Kočovského.
- Kmochová N., Mádllová V.: Práce z dějin Akademie věd 6, 322 (2014).
- Anonym: *Československá akademie věd, Slovenská akademie věd 1964*, ČSAV, Praha 1964.
- Anonym: Věstník ČSAV 67, 625 (1958).
- Anonym: Věstník ČSAV 72, 34 (1963).
- Anonym: Věstník ČSAV 72, 249 (1963).
- Anonym: Věstník ČSAV 68, 236 (1959).
- Anonym: Věstník ČSAV 66, 96 (1957).
- Anonym: Věstník ČSAV 66, 334 (1957).
- Anonym: Věstník ČSAV 68, 283 (1959).
- Černý V., Fajkoš J., Heřmánek S., Janata V., Protiva M., Schwarz V., Syhora K., Sýkora V., Šantavý F., Vystrčil A.: *Chemie steroidních sloučenin*. Práce ČSAV, Sekce chemická. Nakladatelství ČSAV, Praha 1960.
- Fajkoš J.: Chem. Listy Vedu Prum. 48, 1800 (1954) a Collect. Czech. Chem. Commun. 20, 1478 (1955).
- Fajkoš J.: J. Chem. Soc. 1959, 3966.
- Lábler L., Schwarz V.: *Chromatografie na tenké vrstvě*. Nakladatelství ČSAV, Praha 1965.
- Kudová E.: Steroids 147, 2 (2019).
- Šorm F.: Collect. Czech. Chem. Commun. 12, 436 (1947).
- Jurášek M., Drašar P.: Chem. Listy 116, 223 (2022).
- Kasal A.: Chem. Listy 95, 446 (2001).
- Šorm F., Dyková H.: Collect. Czech. Chem. Commun. 13, 407 (1948).
- Топров И. В.: *Пережитое. Новый Хронограф*, Москва 2014.
- Anonym: Vesmír 65, 125 (1986).
- Purš J., v knize: *200 let České společnosti nauk 1784–1984*, (Folta J., Janko J., Nový L., ed.). ÚČSD ČSAV, Praha 1985.
- Lábler L., Sláma K., Šorm F.: Collect. Czech. Chem. Commun. 33, 2226 (1968).
- Jizba J., Sláma K., Herout V., Šorm F.: Czech. CS131136 (1969).
- Ubík K., Vrkoč J.: Insect Biochem. 4, 281 (1974).
- Ismailov A. Ya., Stránský K., Streibl M.: Collect. Czech. Chem. Commun. 40, 3731 (1975).
- Franc M.: Akademický bulletin AV ČR, <http://abicko.avcr.cz/2013/03/08/index-2.html>, staženo 18. 9. 2023.
- Pišová M., Souček M.: Phytochemistry (Elsevier) 12, 2068 (1973).
- <https://cz.linkedin.com/in/karel-slama-a4937242>; staženo 18. 9. 2023.
- Kuchař M., Novotný Z.: Chem. Listy 97, 1181 (2003).
- Drábek P.: Prakt. Lekaren. 8, 42 (2012).
- Starý F.: Živa 34, 173 (1986).
- Bočková H., Šmíd M.: Cesko-Slov. Farm. 28, 243 (1979).
- Protiva M.: Collect. Czech. Chem. Commun. 56, 2501 (1991).

45. Syhora K.: Českoslov. Farm. 11, 502 (1962).
46. Lábler L., Černý V., Šorm F.: CS 92 841 (1958).
47. Kučera J., Procházka Ž., Vereš K.: Chem. Listy Vedu Prum. 51, 97 (1957).
48. <http://martagon-lilie.cz/2020/02/jak-pestovat-krasne-lilie/>; staženo 18. 9. 2023.
49. Brt J.: Květy 22 (20), 31 (1972).
50. Morávek V., Kadanka Z., Minářová L.: Publs. Fac. Sci. Univ. Masaryk 16, 403 (1957).
51. Černíková N.: Fette, Seifen, Anstrichm. 62, 587 (1960).
52. Nosek J. J., Krestinová O., Podivínský R.: Chem. Listy 45, 172 (1951).
53. <https://www.researchgate.net/profile/Petr-Zuman>; staženo 18. 9. 2023.
54. ČTK: Lidovky, 1. 7. 2014.
55. Bičíková M., Hampl R., v knize: *Příběh 60 let Endokrinologického ústavu*, str. 63. Endokrinologický ústav, Praha 2017.
56. Šimánek V.: Chem. Listy 104, 967 (2010).
57. Cvak L.: Chem. Listy 118, 374 (2024).
58. <https://www.myheritage.cz/>, použito naposledy 20. 9. 2023.

P. Drašar (*Department of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic*): **The Beginnings of Steroid Chemistry in The Czech Lands**

Steroid research in the Czech Republic has a long tradition, and this article takes the liberty of summarizing the most important details and information that the author remembers and that he managed to find.

Keywords: history of steroid research in the Czech Republic, steroids, raw materials



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

VÝROBA STEROIDNÍCH HORMONŮ V GALENĚ OPAVA

LADISLAV CYAK

Mihulka s.r.o. Přemyslovců 47, 746 01 Opava, Česká republika
elce@centrum.cz

Došlo 12.3.24, přijato 11.4.24.

Přípravek Antigest firmy Spofa byl uveden na trh již v roce 1965 a Československo tak bylo čtvrtou zemí na světě, kde byla zavedena orální antikoncepce. Antigest obsahoval jako gestagenní složku originální látku methenmanidonacetát (superlutin), látku vyvinutou ve Výzkumném ústavu přírodních léčiv. Superlutin a některé další steroidní látky byly vyráběny v Galeně Opava. V článku jsou popsány syntézy všech steroidních látek vyráběných v Galeně a také shrnuty důvody ukončení výroby steroidů na začátku osmdesátých let.

Klíčová slova: orální antikoncepce, výroba steroidních léčiv, superlutin, Galena Opava, historie výroby léčiv

Obsah

1. Úvod
2. Výroba steroidních hormonů v Galeně
 - 2.1. Výroba superlutinu a chlorsuperlutinu
 - 2.2. Výroba neolutinu
 - 2.3. Výroba demalonu
 - 2.4. Norlutin
3. Proč byla výroba steroidních hormonů v Galeně ukončena
4. Použité triviální (steroidářské) názvy

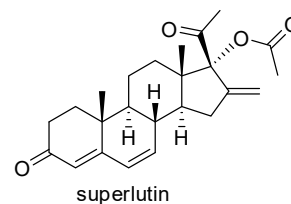
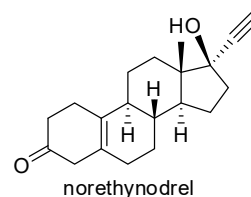
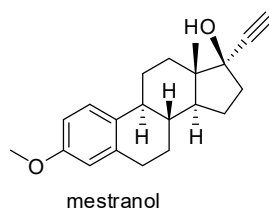
1. Úvod

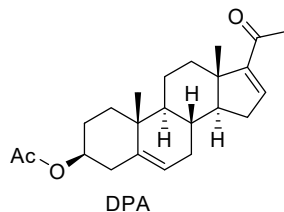
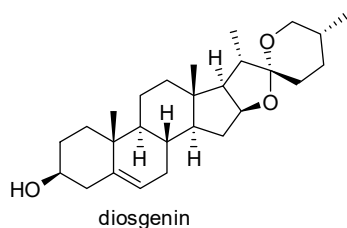
V roce 1957 byly schváleny americkou FDA přípravky *Enovid* firmy Searle a *Norlutin* firmy Syntex pro nekontraseptivní použití v gynekologii a v roce 1960 byl pak *Enovid* schválen jako první antikoncepční pilulka na světě. Přípravek firmy Syntex byl pro antikoncepční použití schválen až v roce 1964 a byl uveden na trh pod názvem *Norinyl*. V roce 1961 byl *Enovid* registrován i ve Velké Británii a ve stejném roce zaregistrovala firma Schering jejich antikoncepční přípravek *Anovlar* ve Spolkové republice Německo. No a čtvrtou zemí na světě, kde byla orální antikoncepce vyvinuta a zavedena, bylo v roce 1965 Československo, kde firma Spofa zaregistrovala přípravek *Antigest*.

Všechny tyto přípravky obsahovaly dvě účinné látky. Jako estrogenní složka byl ve všech uvedených preparátech použit mestranol a jako gestagen byl v přípravku *Enovid* použit norethynodrel¹ a v přípravcích *Anovlar* a *Norinyl* byl použit norethindron (19-norethisteron)². V přípravku *Antigest* firmy Spofa byla použita kombinace mestranolu a methenmanidonacetátu³. Posledně jmenova-

ný gestagen byla originální látka vyvinutá ve Výzkumném ústavu přírodních léčiv v Praze-Hloubětíně (VÚPL) skupinou vedenou Ing. Karlem Syhorou. Methenmanidonacetát je také znám pod názvem superlutin a pod tímto názvem se od roku 1964 až do poloviny osmdesátých let vyráběl v Galeně Opava. Kromě superlutinu se v Galeně vyráběl ještě jeho chlorovaný derivát chlorsuperlutin, další steroidní hormon neolutin a později i anabolikum demalon.

Rozvoj chemie steroidních sloučenin a vývoj steroidních hormonů byl podmíněn nalezením surovinové základny pro jejich přípravu. Hlavní surovinou byl přírodní saponin diosgenin, izolovaný z hlíz rostliny smldínce (yam, též jam) mexický (*Dioscorea mexicana*), rostoucí hojně v mexické džungli. Postup na izolaci diosgeninu a následnou chemickou konverzi na dehydropregnenolonacetát (DPA) vyvinula původně mexická firma Syntex, v níž v té době pracoval i jeden z protagonistů steroidní chemie, Carl Djerassi.





To, že se Československo stalo čtvrtou zemí na světě, kde byla hormonální antikoncepce zavedena, bylo jistě podmíněno celkem liberálním přístupem občanů k této problematice, ale rozhodujícím faktorem byl vynikající stav naší steroidní chemie v té době. Založení skupiny steroidů inicioval už na začátku padesátých let František Šorm a od roku 1953 byla tato skupina začleněna do nově založeného Ústředního ústavu chemického v Praze, předchůdce dnešního Ústavu organické chemie a biochemie (ÚOCHB). Prakticky od začátku skupinu vedl Dr. Václav Černý a po jeho odchodu do penze pak Dr. Alexandr Kasal, který na ÚOCHB působí dosud. Během své činnosti skupina publikovala více než 400 původních vědeckých prací. Kromě této skupiny působící na ÚOCHB vznikla i už výše zmíněná skupina na VÚPL vedená Ing. Karlem Syhorou. VÚPL byl jedním z výzkumných ústavů koncernu Spofa a od roku 1967 se stal součástí Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii (VÚFB). Skupina Ing. Syhory zajišťovala vývoj steroidních léčiv pro Spofu⁴. Kromě vývoje nových originálních látek (superlutin, chlorsuperlutin) se zabývala i vývojem postupů pro výrobu substancí neoriginálních léčiv (neolutin, norlutin, demalon), dnes bychom řekli generických. A postupy vyvinuté touto skupinou byly pak převáděny do výroby v opavské Galeně, která také byla součástí Spofy a specializovala se na výrobu přírodních látek. Rozhodnutí Spofy o výrobě steroidních hormonů v Galeně se mi dnes jeví jako trochu nelogické, v té době už se jiná steroidní léčiva vyráběla v jiném podniku Spofy, v Chemopharmě v Ústí nad Labem.

2. Výroba steroidních hormonů v Galeně

Jediné aktivní substance, které Galena na začátku šedesátých let vyráběla, byly kardioaktivní glykosidy (kardenolidy) izolované z náprstníku vlnatého, lanatosid C a digoxin. To se však mělo velmi rychle změnit. Během šedesátých let byla v Galeně postupně zavedena výroba námelových alkaloidů (1963, přírodní i semisyntetické

námelové alkaloidy), steroidních hormonů (1964) a semi-syntetických penicilinů (1965) a z tradiční farmaceutické firmy se tak postupně stala firma s velmi slušným chemickým zázemím. Zatímco námelové alkaloidy zůstaly ve výrobním portfoliu firmy dosud a v současné době je firma (dnes součást koncernu Teva) jejich největším světovým výrobcem, tak výroba kardenolidů i výroba polosyntetických penicilinů byly ukončeny jako nekonkurenceschopné, kardenolidy už na začátku osmdesátých let a peniciliny na začátku let devadesátých. Také výroba steroidních hormonů skončila už na začátku let osmdesátých a o konci jejich výroby pojednám v samostatné kapitole.

Když jsem nastoupil do Galeny v roce 1977, tak se chemickému oddělení sice ještě říkalo „Steroidy“, ale výroba steroidů už tam prakticky končila, a protože steroidy byly ve firmě neperspektivní, tak jsem se s nimi ani příliš neseznámil. To až nedávno mi přišlo líto, že se o této významné historii firmy nic neví, a tak jsem začal shánět informace. Bohužel o výrobě steroidů se nezachovala prakticky žádná dokumentace. Ne že by taková dokumentace nikdy neexistovala. Určitě existovaly Výzkumné zprávy na VÚPL a VÚFB, a z vlastní zkušenosti vím, že všechny zprávy vyprodukované na VÚFB měly velmi dobrou úroveň, ale při rušení instituce na začátku devadesátých let byly zlikvidovány. Podobně v Galeně existovaly výzkumné Zprávy technologů a podklady pro výrobu, Technologické reglementy a Pracovní instrukce, ale i ty byly většinou zlikvidovány. Z oficiálních dokumentů jsem našel jeden Technologický reglement pro výrobu demalonu a jednu interní Výzkumnou zprávu k nakonec nerealizované výrobě norlutinu. Takže jsem musel další informace shánět přes pamětníky. Postupně jsem získal jména produktů a společně jsme identifikovali výrobní zařízení a odhadli rozsah jednotlivých výrob. Asi nejcennějším materiálem pro mě byl malý sešitek, do nějž si tehdy mladý mistr výroby steroidů Tomáš Berka zapsal návážky všech surovin do jednotlivých stupňů syntézy superlutinu a neolutinu. Tento sešitek pro mě byla pomůcka pro „retrosyntézu“ postupu a současně to je dokument o tom, jak minimální byla tehdy dokumentace pro výrobu aktivních substancí. Existoval nějaký obecný postup (Pracovní instrukce) a mistr napsal na list papíru návážky surovin pro tu konkrétní šarží a dělník (dnes říkáme operátor) na stejný papír psal další parametry jako časy, teploty a výtěžky, a to byl celý Operační list.

Výroba steroidních látek byla v Galeně zahájena v roce 1964. Výchozí surovinou byl nakupovaný diosgenin, který se ve třech stupních převedl na dehydropregnenolon-acetát (DPA) modifikovaným postupem, který vypracoval Marker^{5,6} a do výroby v Galeně ho zavedl Syhora. Postup je prezentován na schématu 1.

2.1. Výroba superlutinu a chlorsuperlutinu

Jako první byla zavedena výroba superlutinu postupem podle Syhory⁷, který Syhora sám poněkud modifikoval. Postup používaný v Galeně je prezentován na sché-

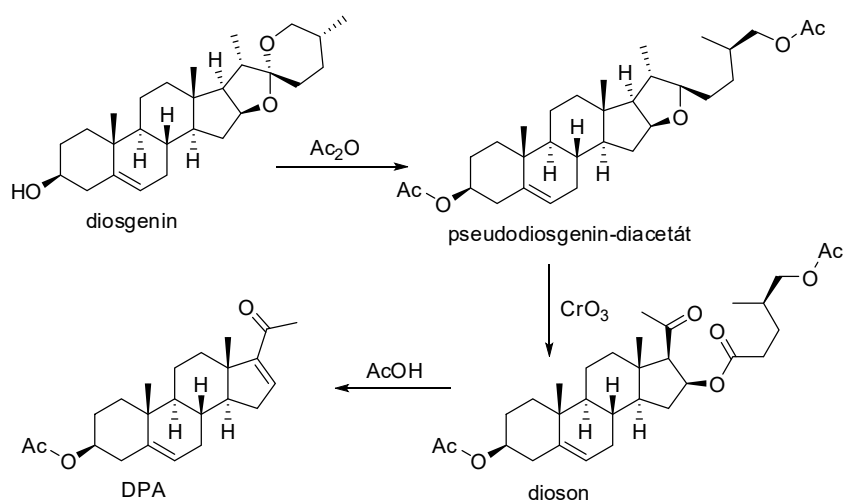


Schéma 1. Odbourání diosgeninu na dehydroregnenolon-acetát

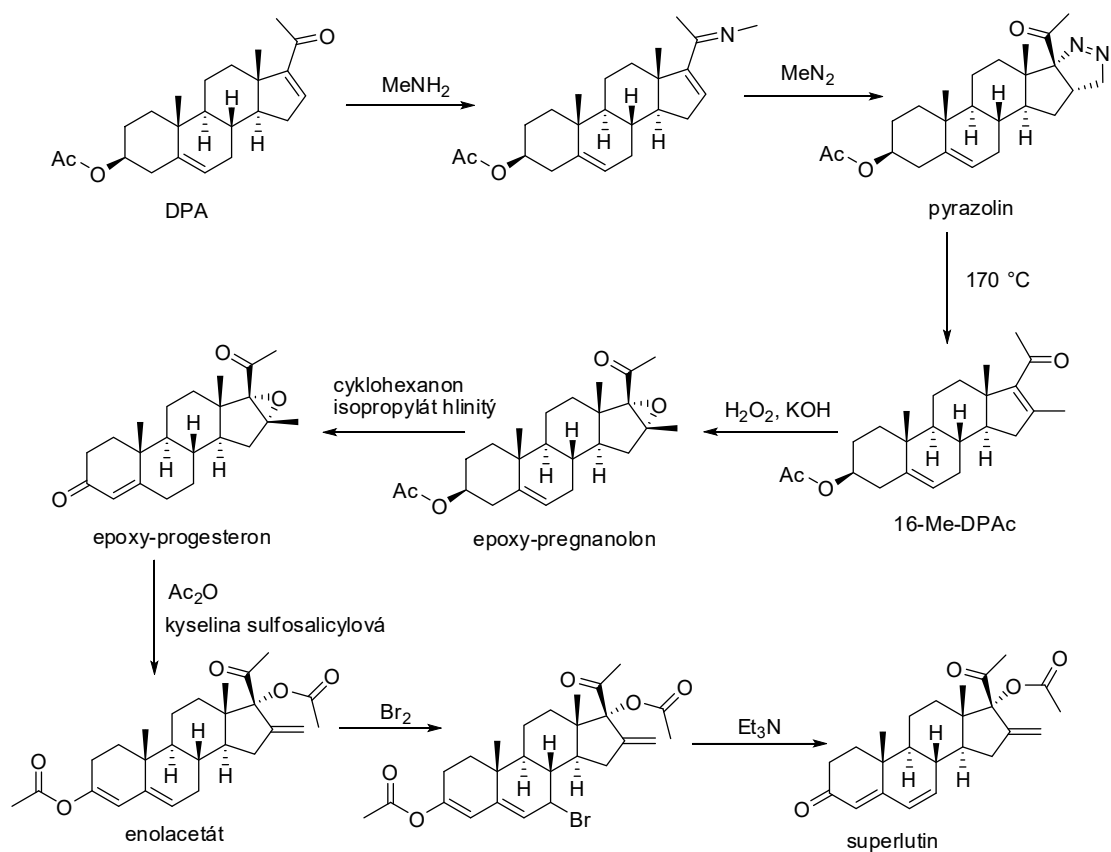


Schéma 2. Syntéza superlutinu

matu 2. Výroba probíhala většinou v 50 nebo 100 litrových skleněných kotlicích s míchadlem a kotlíky byly ponořeny v lázních (vodných, alkoholových či olejových). Do prvního stupně se nasazovalo 7,5 kg DPA a v některých dalších stupních byla šarže dělena na několik menších dílčích šarží. Na konci byly získány necelé 2 kg superlutinu. Celá výroba běžela naslepo, průběžná kontrola byla minimální (HPLC ještě prakticky neexistovala a TLC se ve výrobách steroidů v Galeně používala jen sporadicky), a tak jedinou kontrolou bylo sledování bodu tání izolovaných meziproduktů a jejich optická rotace. Výroba superlutinu v Galeně běžela až do poloviny osmdesátých let, kdy byla ukončena – viz dále. V době největší slávy výroby steroidů v Galeně se ročně vyrábělo několik desítek kilogramů superlutinu.

Chlorsuperlutin (6-chlor-superlutin) se dělal chlorací superlutinu *N*-chlorsukcinimidem a jednalo se o malou výrobu, několik kilogramů aktivní substance ročně. Používal se do přípravku *Biogest* Spofa.

2.2. Výroba neolutinu

Neolutin (17 α -hydroxyprogesteron-kapronát) je gestagen s protrahovaným účinkem. I jeho výroba v Galeně vycházela z DPA a postup je prezentován na schématu 3. Do prvního stupně se nasazovalo 15 kg DPA, ale v dalších

stupních se šarže dělila na řadu menších dávek (obvykle 4, někdy i 6 dávek). Výroba běžela až do poloviny osmdesátých let a ročně se vyrábělo do 20 kilogramů substance.

2.3. Výroba demalonu

Demalon je anabolický steroid a jeho výroba byla v Galeně zavedena až na konci sedmdesátých let. Svým rozsahem to byl malý produkt, jenom několik kilogramů substance ročně. Vyráběl se až do poloviny osmdesátých let. Postup prezentovaný na schématu 4 je opsán z Technologického reglementu, který byl vydán v roce 1981. Začínalo se s 6 kg dehydroepiandrosteron-acetátu (TDAAc) a až do posledního stupně byly výtěžky velmi dobré, získávalo se cca 5 kg androstendionu. Kritická byla Grignardova reakce v posledním stupni, kde vznikala směs produktů a žádaná látka se izolovala opakovanou krystalizací, takže výtěžek tohoto stupně byl jenom 30 % teorie. Celkem se z 6 kg TDAAc získávaly necelé 2 kg demalonu.

2.4. Norlutin

Norlutin je jenom jiné označení pro už výše zmíněný norethindrol. Tato látka se obvykle vyrábí z derivátů estronu, a proto se neřeší eliminace methylové skupiny

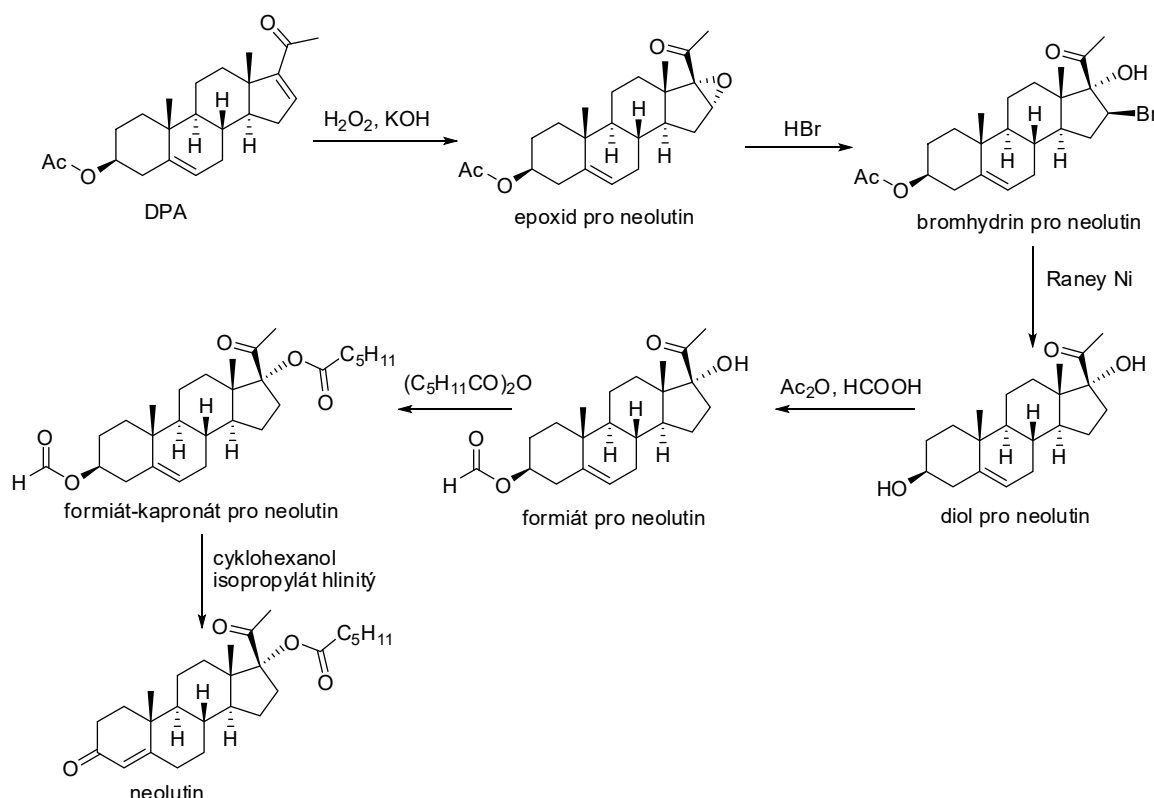


Schéma 3. Syntéza neolutinu

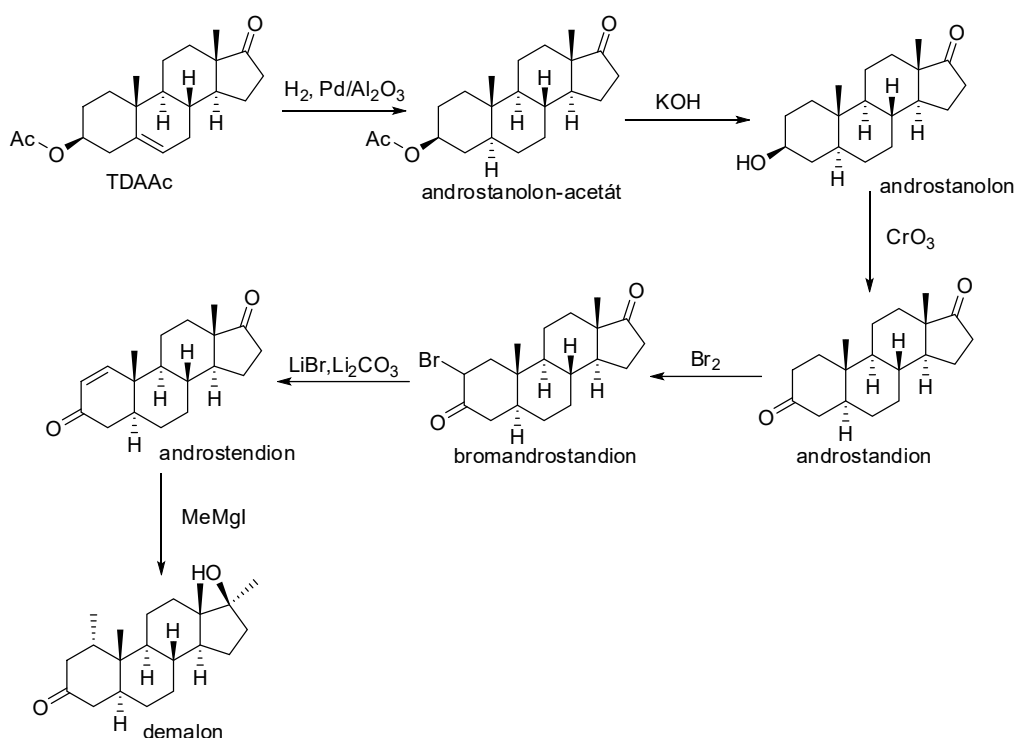


Schéma 4. Syntéza demalonu

v poloze 19. Na VÚFB byl vypracován postup vycházející z TDAAc a ten eliminaci methylu musel zahrnovat, a proto je postup prezentovaný na schématu 5 dosti složitý. Postup jsem získal z interní Výzkumné zprávy vypracované Ing. B. Mošou v Galeně v roce 1973 a v ní se konstatuje, že postup dodaný panem Mazačem z VÚFB (viz dále) byl v Galeně úspěšně ověřen a nic nebrání jeho zavedení do výroby, ale k tomu už nedošlo.

3. Proč byla výroba steroidních hormonů v Galeně ukončena

Důvodů, proč byla výroba steroidů v Galeně v osmdesátých letech ukončena, byla celá řada a pokusím se je analyzovat.

Začnu konstatováním, že program steroidních látek ve Spofě osiřel. Ing. Syhora v roce 1968 emigroval. Jeho asistent, pan Rudolf Mazač se sice ještě několik let snažil steroidní látky dále vyvíjet (viz postup na výrobu norlutiinu), ale už to nebylo ono a nové látky se přestaly dělat úplně. Proto byla činnost jeho malé skupinky ve VÚFB na konci sedmdesátých let ukončena a pan Mazač přešel do skupiny Dr. Trojánka a pracoval tudíž až do penze na alkaloidech. Svět však mezitím šel dál. Zatímco u nás se stále používaly přípravky vyvinuté v šedesátých letech

(*Antigest* a *Biogest*), ve světě byly zavedeny inovované preparáty s nižším dávkováním a menšími vedlejšími účinky.

Druhým důvodem ukončení výroby steroidů byla surovinová základna. Firmy, které ovládaly výrobu diosgeninu v Mexiku (například Syntex) měly zájem prodávat jejich přípravky, a ne surovinu pro výrobu, a tak šla cena diosgeninu mnohonásobně nahoru. O tom, že se tímto problémem na VÚFB zabývali, svědčí publikace jejich pracovníků (Helena Bočková a Milan Šmíd), kde analyzovali jiné zdroje steroidních látek⁸. Jejich návrhy se nikdy neuskutečnily a je otázka, jestli by to pomohlo.

Třetí důvod byla situace v Galeně. Steroidní hormony a polosyntetická antibiotika se dělaly na jednom oddělení, a zatímco steroidy na konci sedmdesátých let stagnovaly, výroba antibiotik (ampicilin, amoxycilin a jiné) šla prudce nahoru. Proto se investovalo do antibiotik, a zařízení pro výrobu steroidů, které zůstalo na úrovni let šedesátých, se udržovalo v chátřání. Navíc šarže steroidů byly malé a vázaly hodně lidí, kteří byli třeba jinde. Musím také konstatovat, že v Galeně se nikdy nevytvořila skupina odborníků, kteří by byli schopni pokračovat ve výzkumu bez VÚFB.

Poslední, neméně důležitý důvod ukončení programu steroidů bylo celkové zaměření Spofy. Spofa byla řízena Ministerstvem zdravotnictví a jeho úkolem bylo zajištění

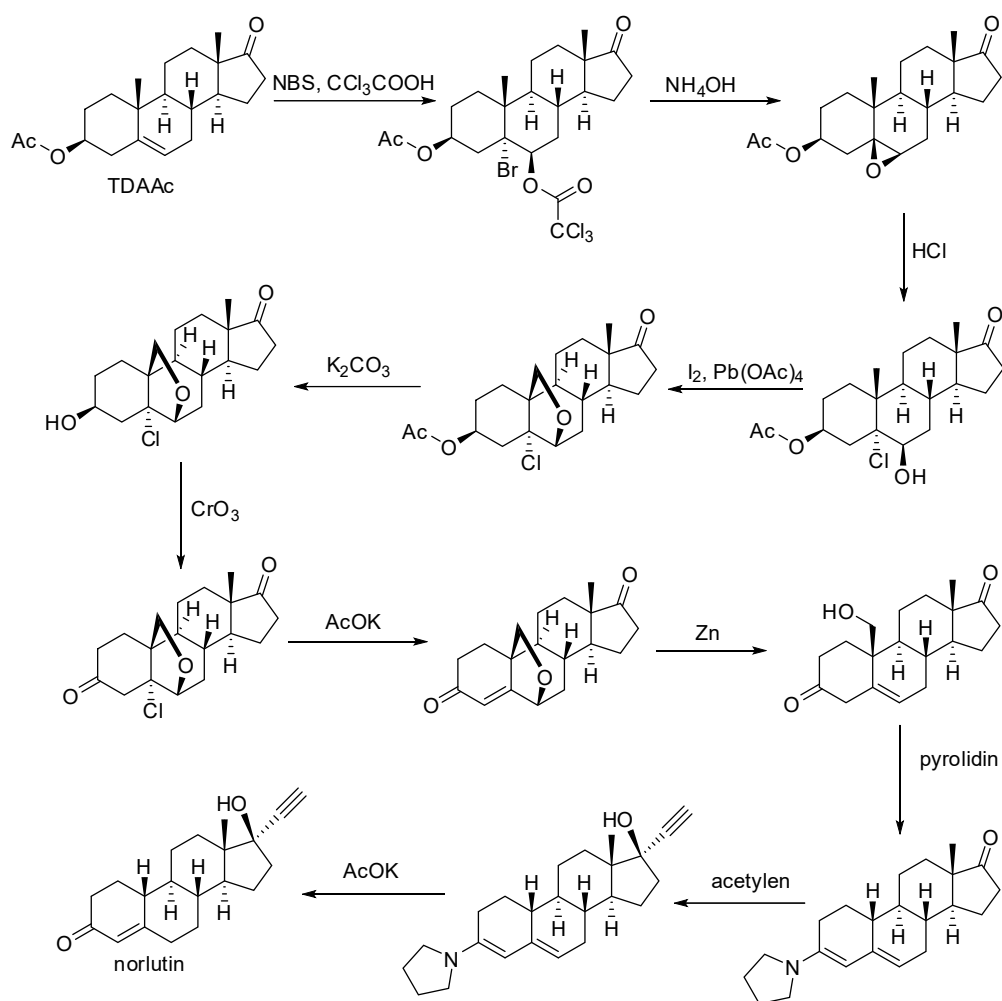


Schéma 5. Syntéza norlutinu

„zdraví národa“, proto se také nemocnice nazývaly „Ústavy národního zdraví“ (OÚNZ, KÚNZ). Třeba studenti farmacie byli takto vychováni, sám si pamatuji, jak se někteří kolegové a zejména kolegyně dívali s nedůvěrou na naši snahu vyrábět námelové alkaloidy na export. V důsledku tohoto zaměření nebyly přípravky na bázi steroidních hormonů registrovány nikde jinde než v Československu. Vedlejším efektem tohoto přístupu bylo, že nebyla důležitá ekonomika výroby léčiv, hlavně, že byly léky. To spolu s cenou vstupních surovin způsobilo, že námi vyráběné přípravky byly drahé. A na konci sedmdesátých let začaly zahraniční firmy nabízet v Československu jejich inovované přípravky, které byly dokonce levnější než ty naše, v osmdesátých letech už zastaralé. Důsledek všech uvedených faktorů byl jednoznačný, výroba byla postupně utlumována a v polovině osmdesátých let zcela zastavena.

4. Použité triviální (steroidářské) názvy

dehydropregnenolon- -acetát	20-oxopregna-5,16-dien-3 β -yl- -acetát
19-norethisteron	17-hydroxy-17 α -19-norpregn- -4-en-20-yn-3-on
17 α -hydroxyprogesteron- -kapronát	3,20-dioxopregn-4-en-17-yl- -hexanoát
dehydroepiandrosteron- -acetát	17-oxoandrost-5-en-3 β -yl- -acetát

LITERATURA

1. Djerassi C.: Steroids 57, 631 (1993).
2. Djerassi C., Miramontes L., Rosenkranz G., Sondheimer F.: J. Am. Chem. Soc. 76, 4092 (1954).

3. Syhora K.: Collect. Czech. Chem. Commun. 26, 1034 (1961).
4. Syhora K.: Cesko-Slov. Farm. 11, 502 (1962).
5. Marker R. E., Wagner R. B., Ulshafer P. R., Wittbecker E. L., Glodsmith W. D. J., Ruof C. H.: J. Am. Chem. Soc. 69, 2167 (1947).
6. Marker R. E., Tsukamoto T., Turner D. L.: J. Am. Chem. Soc. 62, 2525 (1940).
7. Syhora K., Mazáč R.: CS pat. 110 405.
8. Bočková H., Šmíd M.: Cesko-Slov. Farm. 28, 243 (1979).
9. Moša B.: *Norlutin. Výzkumná zpráva*, Galena n.p., Opava 1973.

**L. Cvak (Mihulka s.r.o., Opava, Czech Republic):
Production of Steroid Hormones in Galena Opava**

The drug product Antigest of the company Spofa was launched as soon as in 1965 and Czechoslovakia thus became forth country in the world where oral anticonception was introduced. The gestagen component of Antigest was methenmanidon acetate (superlutin), an original substance developed in the Research Institute of Natural Drugs. Superlutin and some other steroid drugs were produced in the Galena Opava plant. In the article, all the syntheses utilized in the manufacture of steroid drugs in Galena are described and the reasons why the manufacture of steroid drugs was terminated at the beginning of eighties are explained.

Keywords: oral anticonception, manufacture of steroid drugs, superlutin, Galena Opava, history of manufacture of drugs



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoli média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

SARVA ROGA NIVARINI, DAR BOHŮ

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

*Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika
drasarp@vscht.cz*

Došlo 25.7.24, přijato 43.8.24

Článek popisuje strom azadirachtu indickou, zvaný neem, a výrobky z něj. Tyto výrobky se používají v tradiční medicíně, jako agrochemikálie, zdroj biologicky aktivních látek, ale i jako součást potravy. Článek popisuje hlavní chemické složky, jmenovitě azadirachtin.

Klíčová slova: neem, *Azadirachta indica*, přírodní biologicky aktivní látky

Obr. 1. *Azadirachta indická*¹

V Indii a okolních jihovýchodních asijských zemích se má za to, že strom zvaný dnes „neem“ ni:m, (नीम, někdy též nim, nimba, margosa, česky azadirachta indická, patří do rodu *Azadirachta*; řazení do příbuzného rodu *zederach* (*Melia*) je chybné, oba rody patří však do stejné podčeledi *Melioidae*). Strom zřejmě přišel původně z Myanmaru (Barmy) jako dar bohů, neboť je známo, že když byla amrita (elixír nesmrtnosti) přenášena do nebes, pár jejích kapek padlo na neem. Védy znají tuto drogu jako „*sarva roga nivarini*“, což znamená „ten, který léčí všechny nemoci“. Název neem je odvozen ze sanskrtského „*nimbati svasthyamdadati*“, znamenající „dávát dobré zdraví“. Je proto nazýván též „vesnickou lékárnou“ nebo „božským stromem“. Článek mexických autorů přináší rozsáhlý přehled přípravků z neemu a obsahových látek, ale i jejich popsané biologické vlastnosti².

V tradiční orientální medicíně je používán již přes 4500 let. Jeho latinský název je *Azadirachta indica* A. Juss. a pochází z perštiny „*āzād-darakht-e-hindi*“, což značí svobodný strom z Indie³. Popis léčebných účinků lze nalézt již v počátcích novodobé lékařské literatury⁴; zajímavé je, že citovaný anglický článek používá termín „nim“.

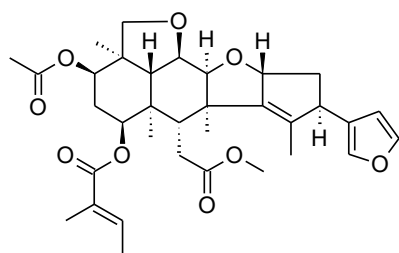
V zemích, kde je uctíván, roste velký, stále zelený a bíle kvetoucí strom neem, dřevem podobný mahagonu, obvykle uprostřed každé vesnice a poskytuje stín a chlad, spolu se spirituální inspirací pod svými větvemi až do té míry, že pod ním přebývala řada významných mudrců, jako například známý shri Sai Baba⁵.

Po poranění kůry vytéká z kmene pryskyřičný výpotek obsahující mnoho proteinů a je používán jako lepidlo. Kůra obsahuje hojně tříslovin a trvanlivé barvivo. Dřevo je tradičně používáno jako palivo v domácnostech a vyrábí se z něj výhřevné dřevěné uhlí. Listy a mladé větvičky se v období sucha používají jako krmivo domácích zvířat. Tenké větvičky se od pradávna žvýkají, což nahrazuje čištění zubů kartáčkem, a navíc posiluje zdraví ústní dutiny a imunitu. Usušené listy odpuzují různý hmyz, vkládají se například do knih nebo mezi uskladněné látky. Plody se konzumují čerstvé nebo vařené, případně se z nich připravuje dezert nebo limonáda. Rozkvetlé květy jsou složkou různých salátů, z mladých výhonků se vaří v Indii polévka. Ze semen se v průmyslovém měřítku lisuje olej, který je nevhodný ke konzumaci, ale slouží pro výrobu mýdla, kosmetiky, pro léčitelské účinky, dále jako palivo do lamp či vařičů nebo mazivo jednoduchých strojů. Jeho obvyklá produkce je okolo 50 % z váhy semen a v roce 2024 činila cena oleje jednotky dolarů za kilogram.

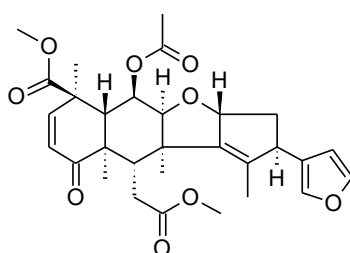
Celá rostlina, nejvíce však semena, a tudíž i olej s vůní připomínající česnek, obsahuje desítky triterpenů (limonoidů), kde jako příklad strukturních typů lze uvést salannin, nimbin, meliantriol, azadiradion, gedunin, nimbolid a hlavně azadirachtin, které mají insekticidní, fungicidní, baktericidní, protipožerové, antimalarické, antioxidační i protinádorové účinky. Rostlina obsahuje i další biologicky aktivní sloučeniny jako flavonoidy, katechiny, saponiny aj.

V lidovém léčitelství se olej, známý pod názvem nimbový, užívá proti vnějším mykózám, střevním parazitům i jako uklidňující sedativum. Při déletrvajícím užívání ale škodí játrům a ledvinám⁶.

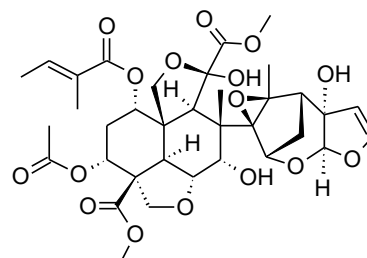
Insekticidní aktivita výrobků z neemu, pokrutin (výlisků) po získávání oleje (neem cake) a samotného nimbového oleje je využívána v zemědělství, ovocnářství



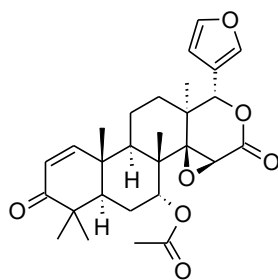
salannin



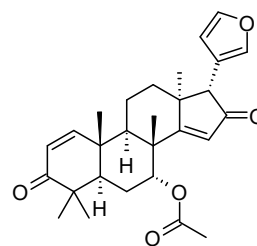
nimbin



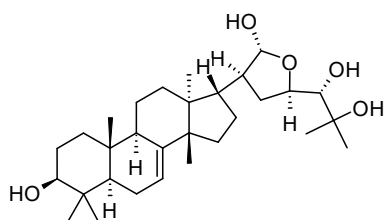
azadirachtin



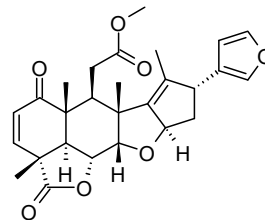
gedunin



azadiradion



meliantriol



nimbolid

a při produkci rýže, bavlny, vinné révy apod.⁷ Takovým široce užívaným insekticidním prostředkem je např. NeemAzal (Trifolio-M GmbH, Lahnau), obsahující čištěnou aktivní složku semenných jader neemu. Aktivní látka (azadirachtin) proniká do listů a je distribuován částečně systémově v rostlině. Do organismu škůdce se dostává sáním nebo požerem. NeemAzal nemá okamžitý toxický účinek (tzv. „knock down“); během několika hodin po aplikaci prostředku dojde k inaktivaci široké škály volně žijícího sajícího, žvýkajícího či listy požírajícího hmyzu, jako jsou např. mandelinka, mšice, molice a třásněnky. Hmyz přestane s převážně požerovou aktivitou, a tím postupně omezí činnosti poškozující rostliny. Procesy vývoje a svlékání jsou navíc inhibovány, což vede k úmrtnosti jedince po několika dnech. U dospělých organismů je navíc výrazně snížena plodnost.

Pokud vezmeme jako příklad použití NeemAzal (v prostředku je deklarováno 1 % azadirachtinu) proti mandelince u brambor, tak 2,5 g azadirachtinu je aplikováno na 1 ha, což je 0,25 mg na m². Tato dávka přírodní látky v zemědělství, či pěstitelství je srovnatelná např. s brassinolidy⁸. Lze snít o agrochemickém

prostředku, kde „téměř homeopatické“ dávky absolutně přírodních a pro člověka bezpečných sloučenin ochrání zemědělskou plodinu před škůdci i stresem. Vedle NeemAzalu je v Registru přípravků na ochranu rostlin povoleno v ČR použití ještě několika prostředků obsahujících azadirachtin a dvou prostředků obsahujících nimbový olej. Na straně druhé Vyhláška č. 58/2018 Sb. o doplňcích stravy a složení potravin azadirachtu indického řadí mezi látky zakázané při výrobě potravin.

Samotné neemové pokrutiny jsou vhodnou přísadou do kompostů a půd, protože kromě organické hmoty a obsahu výživových komponent (hlavně NPK) stále vykazují insekticidní a baktericidní aktivitu, a navíc působí při pěstování rostlin velmi pozitivně zadržováním vlhkosti a dusíkatých sloučenin⁹. Článek ghanských autorů přináší obsáhlý přehled rostlin a škůdců, kde bylo popsáno užitečné použití výrobků z neemu¹⁰.

Neem je, jak již bylo řečeno, zajímavý i z lékařského hlediska. Preklinické studie prokázaly, že neem může být potenciální preventivní a terapeutické činidlo proti různým typům rakoviny. Protirakovinné účinky neemového extraktu jsou spojeny s modulací hlavních

charakteristických jevů v nádorových buňkách včetně inhibice nadměrné proliferace, indukce buněčné smrti, potlačení angiogeneze, obnovení buněčné redoxní rovnováhy a posílení imunitní odpovědi proti nádorovým buňkám, ale i ke zvýšení účinnosti jiných chemoterapeutických činidel nebo jako adjuvans v imunoterapii a radioterapii, s minimálními nebo žádnými vedlejšími účinky během terapie¹¹. Dosavadní studie ukazují, že mezi nejatraktivnější přínosy neemů patří protirakovinné, antidiabetické, fungicidní, baktericidní a protizánětlivé vlastnosti v něm obsažených sloučenin. Zastavení ROS (antioxidační aktivity) je měřítkem prevence a zprostředkování potenciální exacerbace metabolických onemocnění². Zajímavá je aktivita kontrareceptivní, a to zřejmě u obou pohlaví^{12,13}.

Pro svoje zejména baktericidní aktivity se výrobky z neemů uplatní velmi často i v kosmetice a péči o tělo a vlasy.

Jako přírodní zdroj má neem výhody snadné dostupnosti, nízké ceny a bezpečnosti pro člověka, což společně činí sloučeniny získané z neemů cennými kandidáty pro další zkoumání jak biologických, tak i agronomických a insekticidních vlastností. I zde je třeba upozornit na nejrůznější kulišáky, kteří slibují prostředky zaručené „bez chemikálií“ a 100% standardizované, aniž uvedou, na kterou složku byl standard přírodního produktu vztažen. Inu, kšeft je kšeft. Je nutno dále poznamenat, že informace o neemů ať již na webu, tak i v „odborné“ literatuře jsou velmi různorodého typu. Některé před publikováním zřejmě nečetl ani sám autor.

Přinášíme i tento příspěvek jako další příspěvek do série učebních textů popisujících již delší dobu různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek^{14–16} i proto, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, polopравd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Je nabíledni, že zkoumání přírodních látek, jakožto látek z obnovitelných zdrojů, je jednou z cest jak laciným a efektivním způsobem přispět ku všeobecnému prospěchu^{17,18}.

LITERATURA

1. <https://www.herbalreality.com/herb/neem/>, staženo 30. 4. 2024.
2. Islas J. F., Acosta E., Buentello Z. G., Delgado-Gallegos J. L., Moreno-Treviño M. G., Escalante B., Moreno-Cuevas J. E.: *J. Funct. Foods* **74**, 104171 (2020).
3. Singh K. K., Phogat S., Tomar A., Dhillon R. S.: *Neem a Treatise*. I. K. Intl Publishing House Pvt. Ltd., New Delhi 2008.
4. Ganguli M. N.: *Ind. Med. Gaz.* **16**, 333 (1881).
5. Guru Vani: *Teachings of Revered Dr. C. B. Satpathy – Teachings of Shri Sai Baba*; <https://guruvani.us/index.php/2015/10/14/significance-of-the-neem-tree/>, staženo 19. 9. 2023.
6. https://cs.wikipedia.org/wiki/Azadirachta_indica%C3%A1, staženo 30. 4. 2024.
7. <https://www.trifolio-m.de/en/about-us/>, staženo 2. 5. 2024.
8. Jurášek M., Drašar P.: *Chem. Listy* **116**, 223 (2022).
9. Schmutterer H. (Ed.): *The Neem Tree: Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes, 2nd Edition*. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 2002.
10. Adusei S., Azupio S.: *J. Chem.* **2022**, 6778554.
11. Hao F., Kumar S., Yadav N., Chandra D.: *Biochim. Biophys. Acta* **1846**, 247 (2014).
12. Talwar G. P., Upadhyay S. N., Dhawan S.: *US5501855* (1996).
13. Asif M.: *J. Pharmacogn. Phytochem.* **1**, 61 (2013).
14. Jurášek M., Stárka L., Drašar P.: *Chem. Listy* **116**, 115 (2022).
15. Jurášek M., Drašar P.: *Chem. Listy* **117**, 278 (2023).
16. Lapčík O., Čopíková J., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: *Chem. Listy* **101**, 44 (2007).
17. Jurášek M., Cabalka J., Drašar P.: *Chem. Listy* **117**, 547 (2023).
18. Jurášek M., Drašar P.: *Chem. Listy* **116**, 519 (2022).

M. Jurášek and P. Drašar (Department of Chemistry of Natural Compounds, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic): **Sarva Roga Nivarini, Gift of the Gods**

The article deals with the *Azadirachta indica* tree, called neem, which, as well as its products, is used in traditional medicine, agrochemicals, as a source of biologically active substances, but also as part of food. It describes the main chemical components, namely azadirachtin.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: neem, *Azadirachta indica*, natural biologically active substances



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoli média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

ASHWAGANDHA, AJURVEDICKÝ ZDROJ MLÁDÍ

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6-Dejvice, Česká republika
jurasekm@vscht.cz, drasarp@vscht.cz

Došlo 15.2.25, přijato 23.2.25.

Práce charakterizuje léčivku vitanii snodárnou a přináší údaje o základních obsažených sloučeninách a biologické účinnosti.

Klíčová slova: vitanie snodárná, *Withania somnifera*, withanolid, rasayana

Vitanie snodárná (*Withania somnifera* (L.) Dunal, v sanskrtu अश्वगन्ध, ašvagandha, též *Withania ashwagandha* Kaul.), známá též jako indická zimní třešeň, suranjan, anebo indický ženšen, je jedna z nejdůležitějších tradičních ajurvedických drog¹, známá též jako „Sattvic Kapha Rasayana“. Ašvagandhy se ročně jen v Indii sklídí několik tisíc tun.

Rasāyana² रसायन je léčivo, droga, v tomto případě rostlinného původu, sloužící k obnově zdraví a k omlazení³. Samo slovo „Rasayana“ znamená cestu pro podstatné látky výživy (rasa-) ke všem prvkům tělesné tkáně (-ayana), aby je vyživovaly a doplňovaly⁴. Rasayana není jen léčková terapie, ale je to specializovaná procedura praktikovaná ve formě omlazujících receptů, dietního režimu a speciálního chování a chování podporujících zdraví, dlouhověkost, pocit mládí, hojení a regenerace živých tkání v těle, zejména v preventivní medicíně a při léčbě chronických degenerativních onemocnění. Rasayany lze použít například jako doplňky stravy³.

Vitanie snodárná je nenáročná subtropická až tropická vytrvalá dřevnatějící bylina nebo keř se žlutozelenými květy rostoucí v Indii, východní Asii, ve Středozeří a v severní Africe (obr. 1). Vyznačuje se plody podobnými „lampionkům“ mochně židovské třešně (*Physalis alkekengi* L.), kde, pro zajímavost, nalézáme podobné steroidní biologicky aktivní látky⁵ (v obou případech jde o rostliny lílkovité – Solanaceae). Obě rostliny jsou zaměňovány, a to i v odborné literatuře.

Obr. 1. Ašvagandha



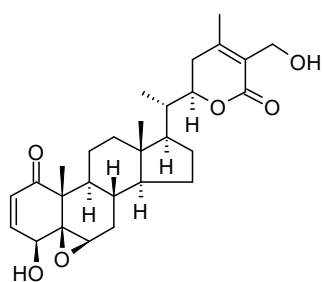
Četné studie prokázaly, že extrakt z této rostliny

může díky svým účinným látkám vyvolat protizánětlivé, neuroprotektivní, imunomodulační, hepatoprotektivní, kardioprotektivní, antidiabetické, antiartritické, adaptogenní, anxiolytické, antistresové a antimikrobiální účinky⁶. Neuroprotektivní účinky mohou být účinným léčebným prostředkem u neurodegenerativních poruch⁷. Kromě toho extrakt zlepšuje endoteliální funkci, omezuje reaktivní formy kyslíku, kontroluje apoptózu, zlepšuje mitochondriální funkci⁸ a lze jej využít i jako doplněk stravy zvyšující hladinu testosteronu⁹. Dále se udávají v literatuře účinky rasayan jako protirakovinné, protivředové, radioprotektivní, afrodiziakální, tlumící poruchy CNS, odstraňující volné radikály, léčící parazitální střevní giardiózu³.

Terapeutický potenciál ašvagandhy je založen především na řadě steroidních laktonů, withanolidů a withaferinů, z nichž k nejdůležitějším patří withaferin A. Obsaženy jsou i glykosylované withanosidy a sitoindosidy¹⁰, ale i withanolidy obsahující síru a chlor¹¹.

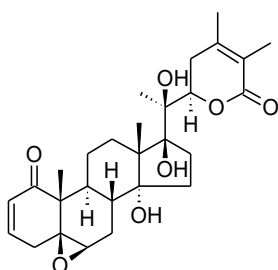
Withaferin A je výjimečně účinný withanolid, který se nachází ve vysokých koncentracích v rostlinných extraktech ašvagandhy. Protizánětlivá aktivita withaferinu A je způsobena interakcí s efekty mnoha signálních drah zapojených do zánětlivé reakce. Dále je popsána reakce na oxidativní stres, regulaci buněčného cyklu a synaptického přenosu a bylo zjištěno, že je významně účinný při navození programované buněčné smrti v rakovinových buňkách, obnově kognitivního zdraví, léčbě cukrovky, zmírnění metabolických poruch a omlazení celkové tělesné homeostázy a zabránění virové endocytózy ad. Na straně druhé je v literatuře diskutována i možná hepatotoxicita¹², ale i její léčení¹³.

Dokonce je prováděna klinická studie kombinační terapie s liposomálním doxorubicinem a withaferinem A/ ašvagandhou u recidivujícího karcinomu ovaria¹⁴. SciFinder ve stovkách citací potvrzuje aktivitu antibakteriální, protizánětlivou a protirakovinnou. Vyskytují se dokonce práce o aktivitě antipsoriatické¹⁵ a proti viru dengue¹⁶.

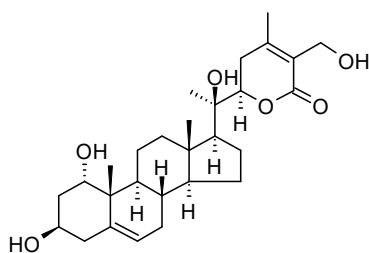


withaferin A

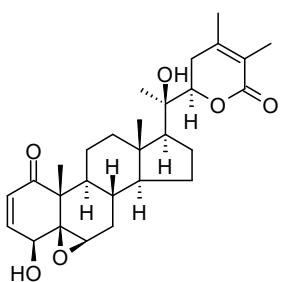
Pokud se týče withanolidů, kterých je v přírodě popsáno téměř 1000 (cit.¹⁷), můžeme jako další příklady u ašvagandhy uvést withanolidy B, D a E (cit.¹), s podobnými biologickými aktivitami jako u withaferinu A,



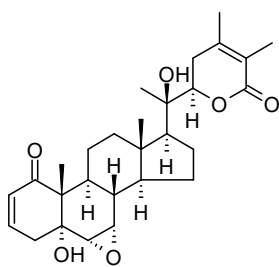
withanolid E



sominon A



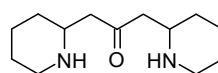
withanolid D



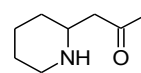
withanolid B

a sominon A s pesticidní aktivitou¹⁸. Triviální názvosloví těchto látek je, bohužel, značně degenerováno.

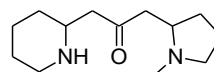
Přítomna je i řada alkaloidů (isopelletierin, anaferin, kuskohygrin, anahygrin, withasomnin¹⁸, pseudotropin



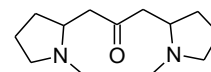
anaferin



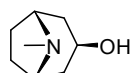
isopelletierin



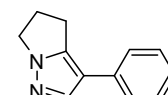
anahygrin



kuskohygrin



pseudotropin

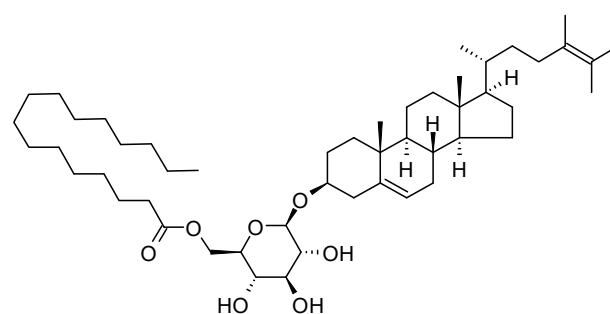


withasomnin

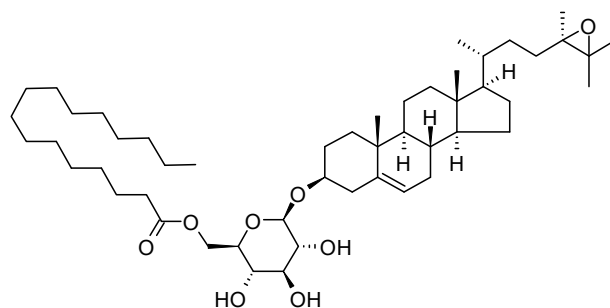
a další) a saponinů s extra acylovou skupinou (mj. sitoindosidy VII a VIII).

U alkaloidů není kromě toxicity uváděna žádná významná biologická aktivita.

Pro uvedené dva sitoindosidy není v literatuře zmíněna jejich biologická aktivita, nicméně pro jejich blízké deriváty sitoindosidy I a II uvádí SciFinder celou řadu aktivit, nanejvýš pak účinnost proti zlatému stafylokokovi, řadu případů inhibice rakoviny, aj.



sitoindosid VII



sitoindosid VIII

Zdá se být užitečné, aby se vědci zabývali přírodními látkami, které jsou součástí tradičních systémů medicíny různých kulturních oblastí světa, což se z mnoha aspektů ukazuje jako prospěšné. Mimo jiné k tomu chce přispět i série článků v tomto časopise^{19–21}.

LITERATURA

1. Mishra A. K., Kumar S. P.: Ayushdhara 8, 3362 (2021).
2. Jurášek M., Cabalka J., Drašar P.: Chem. Listy 117, 547 (2023).
3. Balasubramani S. P., Venkatasubramanian P., Kukku-puni S. K., Patwardhan B.: Chin. J. Integr. Med. 17, 88 (2011).
4. Vidyath R., Nishteswar K.: *A handbook of history of Ayurveda*. Chowkambha Sanskrit Series Office, Varanasi 2006.
5. Shingu K., Yahra S., Nohara T., Okabe H.: Chem. Pharm. Bull. 40, 2088 (1992).
6. Wiciński M. a 9 spoluautorů: Nutrients 16, 2481 (2024).
7. Sharma A., Malhotra M., Singh A. P., Singh A. P.: J. Drug Delivery Ther. 14, 137 (2024).
8. Guo S., Rezaei M. J.: Front. Nutr. 11, 1439294 (2024).
9. Skrzypiec-Spring M., Pokrywka A., Kuliczowska-Płaksej J., Szela A., Bolanowski M.: Adv. Clin. Exp. Med. 34, 185743 (2025).
10. Chittiboyina A. G., Khan I. A.: J. Ethnopharm. 325, 117871 (2024).
11. Zhang H., Timmermann B. N.: Curr. Top. Phytochem. 12, 41 (2014).
12. Carty J., Navarro V. J.: J. Diet. Suppl. 22, 58 (2025).
13. Bhattacharya A., Ramanathan M., Ghosal S.: Phytother. Res. 14, 568 (2000).
14. Kakar S. S.: ClinicalTrials.gov ID NCT05610735 (2024), <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05610735>, staženo 9. 2. 2025.
15. Li T., Gao S., Wei Y., Wu G., Feng Y., Wang Y., Jiang X., Kuang H., Han W.: J. Pharm. Biomed. Anal. 245, 116163 (2024).
16. Lee M. F., Tan S. L., Ahemad N., Hamid A. A. A., Hishamuddin S. A. S. N., Batumalaie K., Afzal S., Wu Y. S.: S. Afr. J. Bot. 169, 426 (2024).
17. White P. T., Subramanian C., Motiwala H. F., Cohen M. S.: Adv. Exp. Med. Biol. 928, 329 (2016).
18. Ragab A., Taher M. A., El-Rafey H. H., El-Rokh A. R.: Appl. Biol. Chem. 67, 29 (2024).
19. Drašar P., Kozler J., Paleta O.: Chem. Listy 117, 581 (2023).
20. Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: Chem. Listy 117, 495 (2023).
21. Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: Chem. Listy 118, 202 (2024).

M. Jurášek and P. Drašar (*Institute of Chemistry of Natural Substances, University of Chemical Technology, Prague, Czech Republic: Ashwagandha, the Ayurvedic Fountain of Youth*)

The paper characterizes the medicinal plant *Withania somnifera* and provides data on the basic compounds contained and biological efficacy.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: *Withania somnifera*, withanolide, rasayana



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoli média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

POČÁTKOVÉ CHEMIE TERPENŮ V ČESKÝCH ZEMÍCH

PAVEL DRAŠAR

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 10 Praha 6, Česká republika
drasarp@vscht.cz*

Článek přináší zásadní informace o počátcích výzkumu terpenů v Československu a o klíčových osobnostech, které se ho zúčastnily.

Klíčová slova: František Šorm, Vlastimil Herout, terpen, Ústav organické chemie a biochemie

Pokud vyhledáváme v databázi Chemical Abstracts Service SciFinder chemiky – terpenáře, kteří publikovali ve své oblasti více než sto prací, nalézáme mezi nimi pouze dva z Československa či z Česka, Františka Šorma a Vlastimila Herouta. Počet prací, ve kterých je autorem jeden z nich nebo oba, je úctyhodných 353, a to z let 1947 až 1990.

Vzhledem k tomu, že termín „terpen“ zavedl v roce 1866 německý chemik Friedrich August Kekulé, je systematické hledání v této oblasti před rokem 1866 téměř nemožné.

Jedna z prvních zmínek o terpenech je z pera Karla Slavoje Amerlinga¹ z roku 1854. Koncem 19. století psal Bohuslav Raýman² řadu statí o terpenech do Listů chemických^{3,4}, tamtéž nalézáme řadu článků redakčních, bez uvedení autora⁵. V Časopise pro průmysl chemický vidíme i práce Josefa Koblice, přísežného chemika⁶. O terpenech psal často v Časopise českého lékárnictva i člen správního výboru Farmaceutické společnosti v Praze magistr farmacie Otta Schreiber⁷. V témže časopise publikoval články o terpenech jednatel Farmaceutické společnosti v Praze prof. dr. Josef Zdenko Lerch⁸. V tomto časopise najdeme za jeho historii (1882–1915) několik desítek článků zabývajících se terpeny.

Rozsáhlejší pojednání o terpenech najdeme v učebnici Nevoletyho a Raýmana z roku 1881 (cit.⁹), případně v publikaci mnoha autorů¹⁰ „Chemie denního života“ z roku 1894 nebo i Raýmanovu stať ve Věstníku České akademie císaře Františka Josefa pro vědy, slovesnost a umění¹¹. O terpenech psaly často i Biologické listy¹² a Rozpravy České akademie věd a umění; Třída II, Mathematicko-přírodnická¹³.

Problematicky terpenů v biologii se dotkl i Karel Kavina¹⁴.

Nicméně, experimentálně se na tomto poli mnoho v Českých zemích nedělo. Samozřejmě mimo živnosti, jako byli lihovarníci, pivovarníci, voňavkáři, bylinkáři a podobně. Dokonce ani Vydřelův Codex-Agrol¹⁵, bible a almanach všeho „chemického“ z období první republiky, se terpeny příliš nezabývá.

Až po válce se na Vysoké škole chemicko-technologického inženýrství (VŠCHTI) utvořila skupina kolem Františka Šorma. Ještě pod vedením Rudolfa Lukeše (na VŠCHTI) se Ladislav Dolejš zabýval seskviterpeny a Miloš Suchý studoval diterpeny; obě práce však ve skutečnosti vedl František Šorm na Ústavu organické technologie¹⁶.

Později, kolem roku 1950, vznikl při Ústředí vědeckého výzkumu Ústřední ústav chemický v čele s ředitelem Františkem Šormem, jenž se později stal Ústavem organické chemie a biochemie ČSAV, kam Šorm přešel ze zmíněné Vysoké školy chemicko-technologického inženýrství v Praze (součásti ČVUT). Ústav byl tehdy součástí III. sekce (Chemické) ČSAV¹⁷. Zde již zformoval větší skupinu zabývající se terpeny¹⁸, jejímž základem se stali zpočátku Zora Šormová, Vlastimil Herout, Otto Knessl, Milan Streibl, Zdeněk Arnold, Josef Mleziva, Jan Plíva, Jiří Gut, Filip Vonásek, Milan Zaoral, Viktor Růžicka, Jan Fajkoš a další. V roce 1952 doplnil tým Ladislav Novotný¹⁹, původem farmaceut. Někteří ze jmenovaných později v ÚOCHB založili skupiny s jinými tématy a někteří z ÚOCHB odešli do jiných institucí. Nicméně práce původního Šormova kolektivu v oblasti chemie steroidů jsou klasifikovány jako nejstarší úsek činnosti Chemického ústavu, pozdějšího Ústavu organické chemie a biochemie²⁰. Jako hlavní obor prvotní systematické práce Františka Šorma je citována chemie terpenů²¹.

WoS uvádí jako prvou publikaci Šormova týmu²² „Synthesa 4,6-dimethylazulenu“ z roku 1947. I na tomto článku vidíme tehdejší praxi – uvést práci nejprve v českém časopise a posléze v časopise Collection v jazyce světovém. CAS v databázi SciFinder vidí (časopisecky) dřívější práci o allolupinanech²³. Databáze časopisu Collection uvádí ještě ranější práci o 6-methylazulenu²⁴, případně o 5-methylazulenu²⁵.



Šorm F.



Herout V.



Novotný L.



Šormová Z.



Plíva J.



Streibl M.



Benešová V.



Gut J.



Arnold Z.



Fajkoš J.

Sám Šorm se ještě před válkou krátce zabýval výbušninami²⁶. Po válce již na VŠCHT pracoval na syntéze heterocyklů a aminů, nicméně od roku 1947, kromě pokračujících prací z oblasti heterocyklů, již systematicky publikoval práce z oblasti terpenů, a to nejen z oblasti syntézy a izolace, ale i z oblasti analýzy a studia struktury.

V roce 1951 byla V. Heroutovi a F. Šormovi udělena Státní cena I. stupně za výzkum v oblasti chemie terpenů (azuleny, karotol, akoron, kalamendiol, farnesen, kalamenen, β -karyofylen, kafr, terpeny pelyňku, chmele, puškvorce a bergamotového oleje a řada dalších). Velký ohlas zde vzbudilo zejména rozřešení chemické konstituce a vzniku chamazulenu, látky, která je nositelem protizánětlivého účinku některých bylin, zejména heřmánku. Pracovníkům

Chemického ústavu se podařilo získat z pelyňku látky chemicky velmi příbuzné²⁷, ethyl- a methylchamazulen, které mají tytéž biologické účinky, přičemž jejich získávání se ukázalo být hospodářsky mnohem výhodnější. Látky byly podrobeny farmakologickému výzkumu pod vedením Heleny Raškové ve Farmakologické laboratoři Chemického ústavu ČSAV²⁸.

I zde pečoval František Šorm z titulu hlavního sekretáře ČSAV o své ovečky²⁹. V roce 1953 odměnila ČSAV kolektiv V. Herout, V. Benešová, V. Dolejš, V. Sýkora, M. Holub, M. Streibl, V. Jarolím a L. Novotný Odměnou I. stupně za práce v oboru terpenů³⁰. Následujícího roku byla výroční cena Akademie udělena kolektivu F. Šorm, V. Benešová, Z. Čekan, L. Dolejš, V. Herout, J. Krupička, J. Novák, J. Sicher a V. Šneberk za izolaci prochamazulenu z heřmánku a za syntézu chamazulenu³¹. V roce 1956 byli odměněni F. Šorm, V. Herout, Z. Čekan a M. Romaňuk za objev nové skupiny guaianolidů a O. Mottl, M. Háva a I. Janků za izolaci a výzkum nového léčiva, terpineolu³². V témže roce obhájil V. Herout kandidátskou disertační práci o azulenech a V. Jarolím o karyofylanu³³. Odměnu za rok 1958 obdrželi V. Herout, V. Sýkora a O. Mottl za vyřešení stereochemie terpenických sloučenin kadinanové řady³⁴. A tak to šlo řadu let dále.

Aby toho nebylo málo, byl 8. 9. 1958 Americkou chemickou společností vyznamenán František Šorm Fritscheho cenou se zlatou medailí za práce v oboru terpenů a přírodních látek³⁵.



Rašková H.

Koncem padesátých let minulého století se do týmu v Dejvicích začlenil Jan Vrkoč, který řadu terpenů izoloval a charakterizoval³⁶. V sedmdesátých letech pak rozvinul za přispění ústavních entomologů chemii obranných látek termitů³⁷.

Jednou z úspěšných kapitol výzkumu terpenů byla oblast juvenilních hormonů³⁸, která navazovala na výzkum v oblasti ekdysteroidů²⁹, který začal v sedmdesátých letech minulého století na Entomologickém ústavu ČSAV a pokračoval i na ÚOCHB v Dejvicích. Klíčovými pracovníky zde byli František Sehnal, Jan Vrkoč, Jan Žďárek, Karel Sláma, Miroslav Romaňuk, Zdeněk Wimmer, Jitka Kahovcová, či Jan Hlaváček.



Sláma K.



Žďárek J.



Romaňuk M.



Wimmer Z.

Jan Vrkoč, Ivan Hrdý a Ladislav Kalvoda později rozvinuli studium uplatnění terpenů v praxi, zejména jako feromonů na ochranu zemědělských a lesních kultur a skladovaných potravin^{39,40}. Ivan Hrdý přivezl do Československa prvé prakticky použitelné feromonové odpárníky z USA, jejichž aktivní látku Kalvoda obratem připravil. Ladislav Kalvoda pak syntetizoval feromony nejprve v ÚOCHB ČSAV, později v rámci nově založené skupiny feromonových přípravků JZD Slušovice⁴¹ s detašovanou laboratoří v Praze⁴², a nakonec ve své privátní laboratoři SynLab v Běchovicích. Tam odešel z ústavu poté, co vedení ÚOCHB údajně odmítlo návrh JZD Slušovice na jeho podporu, na tu dobu velkorysou, svázanou s tím, že pro ně bude feromony na ústavu vyvíjet. V Běchovické firmě „jednoho muže“ syntetizoval pro Ladislava Kohouta (ÚOCHB) i brassinosteroidy⁴³. Jan Vrkoč na druhé straně vyvinul v ÚOCHB ČSAV několik vlastních konstrukcí feromonových odpárníků a úspěšně v této oblasti spolupracoval s řadou zahraničních výrobců a distributorů feromonových odpárníků, jako německou Trifolio-M GmbH Lahnau⁴⁴ (dr. Hubertus Kleeberg) a americkou IPM Technology Ltd. Portland (dr. Philipp Kirsch).

Tematicky příbuzná byla studie Jana Čermáka z Mendelovy univerzity v Brně o analýze terpenů jedle bělokore⁴⁵.

Začátkem 70. let se k pražské skupině připojil Miroslav Holub⁴⁶, který studoval seskviterpenové laktony z rostlin čeledi *Umbelliferae*/*Apiaceae* a *Compositae*/*Asteraceae*. Podařilo se mu prokázat, ve spolupráci s polskými kolegy, že seskviterpenové laktony z výše zmíněných rostlin mají namnoze protirakovinnou aktivitu⁴⁷. Byla studována i aktivita těchto laktónů proti hmyzu⁴⁸. V jeho práci později pokračoval⁴⁹ mj. Juraj Harmatha, který se před tím léta zabýval ekdysteroidy.

Terpeny se zabýval i Josef Špinka, přednosta II. chirurgické kliniky Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, najmě z hlediska jejich biologické aktivity⁵⁰. Petr Zbořil a Viktor Dadák z Masarykovy univerzity v Brně se terpeny zabývali též spíše z hlediska biologické funkce⁵¹. Pracovníci Chemického ústavu SAV, například Zdeno Votický⁵², studovali řadu seskviterpenů, mj. i ve spolupráci s pracovníky ÚOCHB. Těkavé látky ze slivovice studo-



Vrkoč J.



Hrdý I.



Holub M.



Harmatha J.

val kolektiv z VŠCHT Praha kolem Jana Velíška a Jiřího Davidka⁵³. Chemici z Košic pak studovali terpeny řebříčku chlumního⁵⁴. Farmakologové z Hradce králové zkoumali terpeny medvědice lékařské⁵⁵.

Na Karlově univerzitě, na její albertovské Přírodovědecké fakultě, se koncem padesátých let minulého století vytvořil tým kolem Aloise Vystrčila, který nastoupil již roku 1946 (cit.⁵⁶), zahrnující Jiřího Klinotu, Jiřího Černého, Karla Waissera, Evy Řihové, později Klinotové, rozené Vrbové⁵⁷. Později se připojili Jiří Protiva, Václav Křeček, Vladimír Pouzar, Jan Sejbál, František Tureček, Hana Skorkovská, později Chodounská, Jan Šarek a další. V tomto týmu i svoji první publikaci vytvořil Antonín Holý⁵⁸.

Prvá publikace o triterpenech z Karlovy univerzity je práce A. Vystrčila a J. Klinoty o alloheterobetulinu⁵⁹. Před ní publikoval Vystrčil práce obecně v organické chemii. Publikace o alloheterobetulinu určila na dlouhá léta obor práce spolupracovníků Aloise Vystrčila (prvých 9 prací řady publikoval Vystrčil pouze s Klinotem). Stejně jako u zaměření jiných týmů katedry je nábledni, že směr ovlivnil František Šorm, který se po válce stal na čas (do roku 1953) vedoucím katedry⁵⁶ a který ve stejném roce, ve kterém vyšla práce o allobetulinu, publikoval se svými devickými kolegy též práci o terpenech z břízy bílé⁶⁰. Na straně druhé albertovský kolektiv pracoval i v oblasti steroidů⁶¹ a do jisté míry spolupracoval s oddělením terpenů na ÚOCHB ČSAV v Dejvicích⁶², se kterým si však

tematicky nekonkuroval.

Dlouho se soudilo, že triterpeny, kterými se albertovská skupina zabývala, jsou biologicky neaktivní a že slouží jako výtečná rigidní konstrukce pro studium stereochemie a regioselektivity reakcí. Prvou vlašťovkou byl objev antibakteriální aktivity v této skupině látek⁶³. Následovaly studie o proapoptotické⁶⁴, cytotoxické aktivitě⁶⁵, mj. Výzkum v této oblasti probíhá dodnes, potažmo na Palackého univerzitě v Olomouci.

Příspěvek albertovské školy k výzkumu terpenů převodl do praxe Jan Šarek, který z týmu odešel a založil vlastní firmu Betulinines⁶⁶, která nabízí do celého světa širokou plejádu triterpenů a příbuzných sloučenin, vše výhradně z vlastní produkce.

Příspěvek českých chemiků, biochemiků a biologů ke studiu chemie, biochemie a použití terpenů je nemalý a zaslouží si ocenění zejména pro „staré bardy“, kteří budovali tuto oblast chemie přecasto s nebohatými prostředky a skromným vybavením. Je nábledni, že na základě výsledkově bohatých „počátků“ kvetla a bude kvést chemie terpenů nejen na již zmíněných, ale i na dalších pracovištích.

Starší fotografie byly zpracovány programem MyHeritage⁶⁷. Fotografie bez citace zdroje jsou z archivu autora.

LITERATURA

1. Amerling K.: *Lučební základové hospodářství a řemeslnictví ku prospěchu čekatelům promyslných škol*, Rohlíček B., Praha 1854.
2. Drašar P.: Chem. Listy 117, 244 (2023).
3. Rayman B.: Listy Chem. 6, 33 (1882).
4. Rayman B.: Listy Chem. 20, 229 (1896).
5. Anonym: Listy Chem. 15, 271 (1891).
6. Koblic J.: Časopis pro průmysl chemický 8, 223 (1898).
7. Schreiber O.: Časopis českého lékařnictva 2, 182 (1883).
8. Lerch J. Z.: Časopis českého lékařnictva 4, 174 (1885).



Vystrčil A.



Klinot J.



Klinotová E.

9. Nevole M., Raýman B.: *Chemie organická pro vysoké učení české*. Slavík & Borový, Praha 1881.
10. Kunderát F.: *Silice a voňavkářství*, v knize *Chemie denního života*. I. L. Kober, Praha 1894.
11. Raýman B.: Věstník České akademie císaře Františka Josefa pro vědy, slovesnost a umění, *1*, 123 (1892).
12. Hamsík A.: Biol. Listy *3*, 340 (1914).
13. Plzák F., Frejka J.: Rozpravy České akademie věd a umění; Třída II, Mathematiko-přírodnická *26*, 1 (1917).
14. Kavina K.: Věstník Královské české společnosti nauk. Třída mathematiko-přírodovědecká *1919*, 1 (1921).
15. Vydržel A.: *Codex-Agrol*, Codex-Agrol-Vydržel, Olomouc 1935.
16. <https://uoch.vscht.cz/o-ustavu/absolventi-doktoraty>, staženo 26. 10. 2024.
17. Nejedlý Z.: Věstník Československé akademie věd *63*, 201 (1854).
18. Brdička R.: Věstník Československé akademie věd *63*, 204 (1854).
19. Harmatha J.: Chem. Listy *97*, 123 (2003).
20. Anonym: Věstník Československé akademie věd *74*, 742 (1965).
21. Anonym: Věstník Československé akademie věd *71*, 333 (1962).
22. Šorm F., Šormová Z., Šedivý L.: Chem. Listy Vedu Prum. *41*, 30 (1947); Collect. Czech. Chem. Commun. *12*, 554 (1947).
23. Lukeš R., Šorm F.: Collect. Czech. Chem. Commun. *12*, 356 (1947).
24. Šorm F., Fajkoš J.: Collect. Czech. Chem. Commun. *12*, 81 (1947).
25. Šorm F.: Chem. Obzor *21*, 23 (1946); Collect. Czech. Chem. Commun. *12*, 251 (1947).
26. Drašar P., Pačes V.: Chem. Listy *119*, 219 (2025).
27. Šorm F., Vonášek F., Herout V.: Collect. Czech. Chem. Commun. *14*, 91 (1949).
28. Anonym: Živa *4*, 90 (1956).
29. Drašar P.: Chem. Listy *118*, 368 (2024).
30. Anonym: Věstník Československé akademie věd *63*, 99 (1954).
31. Anonym: Věstník Československé akademie věd *64*, 29 (1955).
32. Anonym: Věstník Československé akademie věd *66*, 68 (1957).
33. Anonym: Věstník Československé akademie věd *66*, 194 (1957).
34. Anonym: Věstník Československé akademie věd *68*, 236 (1959).
35. Anonym: Věstník Československé akademie věd *67*, 592 (1958).
36. Anonym: Věstník Československé akademie věd *70*, 253 (1960–1961).
37. Vrkoč J., Ubik K., Dolejš L., Hrdý I.: Acta Entomol. Bohemoslov. *70*, 74 (1973).
38. Kontev C. A., Žďárek J., Sláma K., Sehnal F., Romanuk M.: Acta Entomol. Bohemoslov. *70*, 377 (1973).
39. Kačer P.: Lidová demokracie *39*, vydání 16. 2., str. 3 (1983).
40. Vrkoč J., Kalvoda L., I.: PV-6697-79, CZ203399 (1976).
41. Peterka V.: *Ze života rostlinolékaře, aneb I rostliny mají své doktory*, Česká společnost rostlinolékařská, z.s., Praha 2021.
42. Hrdý I.: Vesmír *81*, 433 (2002).
43. Točík Z., Hrdý I., Vrkoč J., Havlas Z.: Chem. Listy *96*, 656 (2002).
44. <https://www.trifolio-m.de/en/>, staženo 11. 2. 2025.
45. Čermák J.: Trees-Structure and Function *1*, 9 (1987).
46. Holub M., Samek Z.: Collect. Czech. Chem. Commun. *38*, 731 (1973).
47. Hladon B., Drozd B., Holub M., Szafarek P., Klimaszewska O.: Pol. J. Pharmacol. Pharm. *30*, 611 (1978).
48. Nawrot J., Smítalová Z., Holub M.: Biochem. Syst. Ecol. *11*, 243 (1983).
49. Harmatha J., Vokáč K., Kmoníčková E., Zídek Z.: Planta Med. *74*, 1155 (2008).
50. Špinka J.: Živa *11*, 149 (1963).
51. Zbořil P., Dadák V.: Arch. Biochem. Biophys. *159*, 249 (1973).
52. Důbravková L., Dolejš L., Votický Z.: Phytochemistry *18*, 1740 (1979).
53. Velíšek J., Pudil F., Davídek J., Kubelka V.: Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung *174*, 463 (1982).
54. Černaj P., Repčák M., Hončariv R., Tesařík K.: Biologia *38*, 865 (1983).
55. Jahodář L., Grygarová V. Buděšinský M.: Pharmazie *43*, 442 (1988).
56. Staněk J.: Czech Chem. Soc. Symp. Ser. *21*, 2 (2023).
57. <https://www.myheritage.cz/site-398465651/alt>, staženo 19. 10. 2024.
58. Holý A., Vystrčil A.: Collect. Czech. Chem. Commun. *27*, 1861 (1962).
59. Vystrčil A., Klinot, J.: Collect. Czech. Chem. Commun. *24*, 3273 (1959).
60. Holub M., Herout V., Horák M., Šorm F.: Collect. Czech. Chem. Commun. *24*, 3730 (1959).
61. Jirsa M., Klinot J., Kordač V., Brodina R.: PV-1980-86.P, CS-259757 (1986).
62. Kotlaba F., Křepinský J., Herout V., Prokeš R., Vystrčil A.: Naturwissenschaften *52*, 591 (1965).
63. Valterová I., Klinot J., Vystrčil A.: Collect. Czech. Chem. Commun. *48*, 649 (1983).
64. Šarek J. a 13 spoluautorů: J. Med. Chem. *46*, 5402 (2003).
65. Urban M., Šarek J., Klinot J., Kořínková G., Hajdúch M.: J. Nat. Prod. *67*, 1100 (2004).
66. <https://www.betulinines.cz/>, staženo 11. 2. 2025.
67. <https://www.myheritage.cz/>, použito naposledy 11. 2. 2025.

P. Drašar (*University of Chemical Technology in Prague, Prague, Czech Republic*): **Early Terpene Chemistry in the Czech Lands**

The article provides essential information about the beginnings of terpene research in Czechoslovakia and about the key figures who participated in it.

Keywords: František Šorm, Vlastimil Herout, terpene, Institute of Organic Chemistry and Biochemistry Prague



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoli média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

POVĚSTMI OPŘEDENÉ JMELÍ BÍLÉ (*Viscum album* L.): HISTORIE JEHO VYUŽÍVÁNÍ V LÉČBĚ A LÁTKY V NĚM OBSAŽENÉ

Věnováno 100. výročí osamostatnění Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy.

TOMÁŠ LENER a KAREL NESMĚRÁK

Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, Hlavova 8/2030, 128 00 Praha 2, Česká republika
tomas.lener@natur.cuni.cz, karel.nesmerak@natur.cuni.cz

Došlo 28.4.2025, přijato 12.5.2025.

Jmelí bílé (*Viscum album* L.) fascinuje lidstvo svou výjimečností od nepaměti a je spojováno s bohatou symbolikou a řadou pověstí. Navzdory obsahu toxických látek bylo po staletí využíváno k léčebným účelům a dodnes zůstává předmětem výzkumu. Úvodní část práce shrnuje biologii jmelí, na niž navazuje přehledem jeho výskytu v historii: od archeologických nálezů přes zmínky u antických autorů (Hippokrates, Aristoteles, Theofrastos, Strabón, Vergilius, Plinius Starší) až po jeho roli v mytologii Keltů, severských ságách a křesťanské tradici. Následující část analyzuje léčebné využití jmelí od antiky přes středověk a renesanci (včetně názorů Paracelsových a českých lékařských knih), baroko až po moderní dobu. Poslední část práce se zaměřuje na skupiny obsahových látek jmelí – fenolické sloučeniny, lektiny, viskotoxiny, alkaloidy, terpeny a sacharidy – a jejich medicínský význam a toxicitu. Jmelí bílé je představeno jako pozoruhodná léčivá rostlina s bohatou historií a trvalým vědeckým zájmem díky obsahu bioaktivních látek s potenciálním imunomodulačním a cytotoxickým účinkem.

Klíčová slova: historie, jmelí bílé, léčivé rostliny, obsahové látky, *Viscum album* L.

Obsah

1. Úvod
2. Biologie jmelí
3. Jmelí v historii a pověsti s ním spojené
4. Historie využívání jmelí v léčbě
 - 4.1. Doba antická
 - 4.2. Středověk
 - 4.3. Renesance
 - 4.4. Doba barokní
 - 4.5. Novověk
5. Obsahové látky jmelí, jejich medicínský význam a toxicita
 - 5.1. Fenolické látky
 - 5.2. Lektiny
 - 5.3. Viskotoxiny
 - 5.4. Alkaloidům příbuzné látky
 - 5.5. Terpenoidy
 - 5.6. Sacharidy
6. Závěr

1. Úvod

Jmelí bílé svou odlišností od ostatních rostlin fascinovalo lidstvo od nepaměti, a tak není divu, že se zapsalo do mytologií hned několika kultur a je s ním spojena nejedna pověst či symbolika. I přes svoji jedovatost bylo po staletí využíváno k léčebným účelům a jeho možné využití v tomto směru je předmětem i současných vědeckých studií. Navíc díky rozvoji přírodních věd jsou stále odhalována další tajemství této mytické rostliny.

2. Biologie jmelí

Jmelí bílé (*Viscum album* L.; obr. 1) je vyšší dvouděložná rostlina z čeledi santálovité (*Santalaceae*) a rodu jmelí (*Viscum*), který zahrnuje okolo jednoho sto druhů rostoucích zejména v Evropě, Asii a Africe^{1,2}. Jedná se o stálezelenou poloparazitickou rostlinu, kterou lze nalézt v korunách některých listnatých a jehličnatých stromů, kde vytváří typické kulovité útvary, dobře pozorovatelné na listnatých stromech v zimě – po opadu listů^{3,4}. Jmelí je se stromem spojeno pomocí svých „kořenů“ – pohružováků (haustorií), které prorůstají mezi kůrou a dřevem,



Obr. 1. **Jmelí bílé:** (A) haustorium, (B) kvetoucí samčí rostliny, (C) větvíčka samičí rostliny s plody, (1) samčí květenství, (2) samčí květ, (3) řez samčím květem, (4) samičí květenství, (5) řez samičím květem, (6, 7) semeno, (8) klíčící semeno (převzato z cit.⁵)

a jmelí pomocí nich čerpá ze stromu vodu a minerální látky. Zelená (fotosyntetizující) část jmelí je tvořena vidličnatými stonky, na jejichž vrcholu se nacházejí dva vstřícné, podlouze vejčité až kopinaté, tlustě kožovité listy. Každý rok pak jmelí přirůstá o jeden článek stonku se dvěma listy na vrcholu. Jmelí je dvoudomá rostlina, drobné jednopohlavné květy vyrůstají v rozsochách větví. Na místě samičích květů se následně objevují nejprve zelené a následně bílé až nažloutlé kulaté „plody“ ukrývající tvrdé semeno. Semena jsou rozšiřována pomocí ptáků a na větve stromů se přichytávají svým lepkavým obalem.

Hostitelskou rostlinou jmelí bílého jsou jehličnany a listnaté stromy. V případě dubů, na kterých není výskyt jmelí příliš častý, a jmelí z nich bylo proto v historii považováno za nejcennější, mohlo docházet k záměně jmelí s jinou poloparazitickou rostlinou, mnohem častěji se na dubech vyskytující – ochmetem evropským (*Loranthus europaeus* Jacq.) – který se však od jmelí odlišuje opadavostí listů v zimním období a žlutými plody. Navíc se obě rostliny odlišují i ve složení obsahových látek^{6–9}. Jmelí bílé je také podobné svému americkému příbuznému *Phoradendron leucarpum*, který je původní v Severní Americe a stejně jako jmelí bílé je používán k výzdobě¹. Samotné

jmelí bílé se pak na základě hostitelských rostlin a morfologických odlišností rozděluje do tří poddruhů: (1) *V. album* L. ssp. *album*, jmelí pravé, rostoucí na listnatých stromech, (2) *V. album* L. ssp. *abietis* (Wiesb.) Abrom., jmelí jedlové, rostoucí na jedlích a (3) *V. album* L. ssp. *austriacum* (Wiesb.) Volim., jmelí borovicové, rostoucí převážně na borovicích^{6,10}.

Pro farmaceutické účely se sbírají mladé, olistěné větévky jmelí, označované v lékopisech jako *Stipes et folium visci* (stopky a listy jmelí) nebo *Herba visci* (nať jmelí)⁴.

3. Jmelí v historii a pověsti s ním spojené

Jmelí fascinovalo lidi od nepaměti nejen svou schopností být zelené i během zimy, ale také svým neobvyklým výskytem v korunách starých stromů a absencí kořenů, které by ho spojovaly se zemí. A tak není divu, že bylo opředeno mnoha pověstmi¹.

Archeologické nálezy dokládají využití jmelí našimi předky již v období neolitu, kdy bylo zřejmě používáno během rituálů, v léčitelství, ale také ke krmení zvířat během dlouhých zim^{11,12}. Nicméně podobné nálezy je nutné opravdu kriticky zhodnotit, jak tomu například bylo s údajnými „bobulemi jmelí“, které byly nalezeny v hrobcích z rané doby bronzové v Severním Yorkshiru. Nestrutivní analýza pomocí Ramanovy spektroskopie prokázala, že tyto malé kulovité útvary jsou ve skutečnosti močové kameny zesnulého¹³.

Z antických autorů se jako první o jmelí zmiňuje nejslavnější lékař starověku Hippokrates z Kósu (460–370 př. Kr.). Ten ve svém spisu *Περὶ τῶν ἐντοῶν Παθῶν*¹⁴ (O vnitřních chorobách) uvádí léčivý přípravek na posílení činnosti sleziny, který mimo jiné ingredience obsahuje i listy rostliny *ἰχός* (íksos), kterou lze pravděpodobně ztotožnit se jmelím.

Aristoteles ze Stageiry (384–322 př. Kr.) v díle *Περὶ ζῴων γενέσεως*¹⁵ (O vzniku zvířat) uvádí jmelí jako příklad organismu vznikajícího spontánně z mateřské rostliny. Domnívá se, že za sekundární rozšíření jmelí jsou zodpovědní ptáci, kteří nejprve snědí bobule jmelí, a pak semena roznášejí svým trusem. V dalším svém spisu, *Μετεωρολογικά*¹⁶ (Meteorologie), zmiňuje jmelí na dvou místech: jednak jako příklad hmoty, která netuhne, a dále jako příklad hmoty, která je vláčná. Konečně jako zajímavost uvádí ve svém díle *Τὼν περὶ τὰ ζῷα ἱστοριῶν*¹⁷ (O zvířatech), že drozd brávník (*Turdus viscivorus* L.) se „živí pouze jmelím a pryskyřicí“. To se stalo základem po staletí tradovaného výroku „*Turdus ipse sibi exitium cat.*“ (drozd sám sobě záhubu trouší), neboť plody jmelí, respektive ochmetu, byly po staletí využívány ptáčnický na výrobu lepu k chytání ptáků¹.

Otec botaniky, Theofrastos (asi 371 až asi 287 př. Kr.), se o jmelí zmiňuje ve svém průlomovém díle *Περὶ αἰτιῶν φυτόνων*¹⁸ (O příčinách růstu rostlin). Rozlišuje mezi jmelím a ochmetem a uvádí, že jmelí může růst jen na jiné rostlině, tedy paraziticky, a že lépe prospívá na

jehličnanech, jako je borovice nebo jedle. Dodává, že tento parazitismus může vést až k úmrtí hostitelské rostliny. Nicméně ve svém neméně proslulém spise *Περὶ φυτῶν ἱστορίαι*¹⁹ (Zkoumání rostlin) ochmet nazývá dubové jmelí.

Starořecký historik Strabón (asi 63–19 př. Kr.) v nejobsáhlejší dochovaném antickém geografickém díle *Γεωγραφικά*²⁰ (Geografika) uvádí zajímavé použití rostliny *ἰζός* k lovení opic, kdy se využívá lepivosti plodů (nicméně zde se spíše jedná o záměnu za ochmet).

Jmelí bylo často zmiňováno i v antických básnických dílech. Příkladem může být slavná *Aeneis*, jejímž autorem je nejproslulejší římský básník Publius Vergilius Maro (70–19 př. Kr.). Ve čtvrté knize (verš 205–207) popisuje zlatou větvíčku, kterou potřebuje hlavní hrdina jako dar pro bohyni Proserpinu²¹:

*quale solet silvis brumali frigore viscum
fronde virere nova, quod non sua seminat arbos,
et croceo fetu teretis circumdare truncos:*

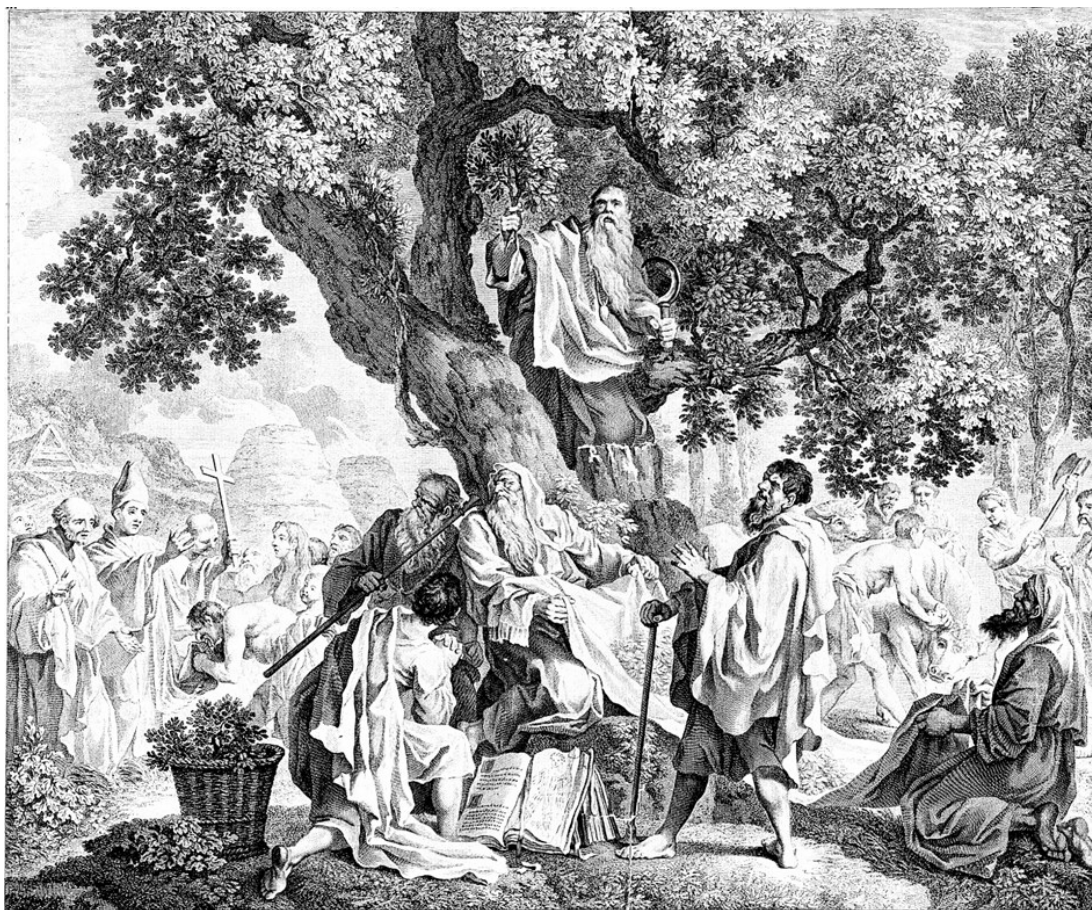
V překladu:

*Nejinak za zimních mrazů se občas po lesích jmelí
zelená čerstvým listím, jež nevzrostlo ze svého stromu,
kolem pak útlého kmene mu žlutavé bobulky rostou;*

Básník opět připomíná parazitismus rostliny a její zelený vzhled v zimním čase, kdy je většina rostlin svých listů zbavena. V kultuře starých Řeků a Římanů bylo jmelí zasvěceno právě bohyni podsvětí Proserpině.

Kromě řecké mytologie se jmelí objevuje i v té severské. Ve sbírce norských a islandských ság *Edda* je jmelí příčinou smrti boha Baldera^{22,23}. Jeho matka, bohyně Frigga sice přiměla všechny rostliny, kovy a předměty na světě, aby slíbily, že jejímu synovi neublíží, ale přehlédla jmelí, protože ho považovala za příliš bezvýznamné, a tak se neobtěžovala ho s touto prosbou oslovit. Když to zjistil Loki, bůh lsti, přiměl Balderova slepého bratra Hodra, aby po Balderovi hodil šíp ze jmelí, a tak ho usmrtil.

Významnou rostlinou bylo jmelí pro keltské druidy, kteří jmelí rostoucí na dubech, na nichž roste jen zřídka, považovali za *omnia sanans* (všelék)^{12,24}. Kelové o své kultuře nezanechali žádné písemné zmínky, a tak nalézáme nejvíce zmínek o jejich využívání jmelí v nejrozsáhlejší dochované přírodovědné encyklopedii antiky, *Naturalis historia* (O přírodě), jejímž autorem je Gaius Plinius Secundus (23/24–79), zvaný Plinius starší. Po mnoho dalších staletí byl citován jeho detailní popis druidského sběru jmelí z dubu, které se uskutečňovalo šest



Obr. 2. Druidský rituál sběru jmelí, jak si jej na základě Pliniova líčení představoval anglický malíř Francis Hayman (1708–1776)

dní po novoluní²⁴: „připravuji rituální oběť a hostinu pod stromem a přivádějí dva bílé býky, jejichž rohy jsou poprvé při této příležitosti spoutány. Kněz, oděný v bílý šat, vyleze na strom a zlatým srpem odřízne jmelí, které je zachyceno do bílé látky. Nakonec obětují zvířata ... Věří, že jmelí podávané v nápoji zajistí plodnost jakémukoli neplodnému zvířeti a že je protijedem proti všem jedům.“ (obr. 2). Plinius se samozřejmě zabývá i botanikou jmelí, dokonce rozlišuje tři druhy jmelí, podle toho, zda roste na jehličnanech, dubu nebo jiných druzích stromů. Upozorňuje, že v důsledku toho se liší vzhled jmelí, jeho vůně a jedovatost (jako protijed na otravu jmelím kromě některých rostlin doporučuje i oslí mléko). Z praktického použití jmelí pak uvádí možnost výroby lepu pro chytání ptáků z jeho bobulí.

Magický význam si udrželo jmelí i v následujících dobách, kdy bylo například s dalšími přísadami používáno k vykuřování domů, zvířat i lidí, aby je ochránilo před blesky, kouzly a zlými sny^{1,12}. Podle středověkých křesťanských legend bývalo jmelí kdysi velkým, vznešeným stromem²³. Ale protože dřevo z něj bylo použito na Ježíšův kříž, stalo se prokletým a scvrklo se na malou, parazitickou rostlinu. Proto bylo jmelí nazýváno *lignum sanctae crucis* (dřevo svatého kříže). Na druhé straně bylo jmelí uctíváno i jako symbol samotného Ježíše Krista či věčného života (obr. 3). Proto se stalo i součástí vánočních svátků, kdy polibek pod zavěšeným jmelím je příslibem štěstí a dlouhého života.

4. Historie využívání jmelí v léčbě

4.1. Doba antická

Od antických dob bylo jmelí doporučováno k mnoha léčebným účelům a používáno na nejrůznější onemocnění. Vedle již výše zmíněného Hippokrata je to zejména proslulý římský lékař Aulus Cornelius Celsus (25 př. Kr. až 50 po Kr.), který ve svém po staletí využívaném spise *De medicina*²⁵ (O lékařství) zmiňuje jmelí na řadě míst. Doporučuje ho jako součást složených léčivých přípravků pro nejrůznější indikace, jako je léčba nádorů, abscesů a hnisajících ran, potlačování bolesti, změkčování otlaků a mírné prokrvení pokožky.

Plinius starší v *Naturalis historia*²⁴ z léčivých vlastností jmelí uvádí jeho zvláštějící charakter, dále jeho působení proti nádorům a skrofulóze, a že ve směsi s pryskyřicí a voskem hojí povrchové abscesy. Kosmeticky ho lze použít k vyhlazení zkrabatělých nehtů. Následně uvádí, že podle pověrečných názorů má jmelí pomáhat při ženské neplodnosti a epilepsii.

Řecký lékař Pedanius Dioscorides (40–90 po Kr.), působící nicméně v Římě, ve svém průlomovém díle *Περὶ ὕλης ἱατρικῆς*²⁶ (O léčivých látkách) – které bylo základem evropské farmacie po následujících 1 500 let – uvádí ve III. knize, 103. kapitole, rostlinu ἰζός, kterou ale podle jeho popisu může být jak *Viscum album*, tak *Loranthus europaeus*, přičemž druhá varianta je pravděpodobnější.



*Robore ab annofo viscum sanare caducos
Quod valet, est Christi vincta figura Dei.*

Obr. 3. **Jmelí jako symbol Ježíše Krista**, jak ho uvádí německý lékař a přírodovědec Joachim Camerarius mladší (1534–1598) ve svém proslulém emblematickém spisu *Symbolorum & emblematum ex re herbaria desumptorum* (Noribergae, Hofmannus et Camoxius 1590). Překlad textu pod emblémem: „Jmelí z letitého dubu uzdravuje nemoci zesláblé, což značí, že je živoucím obrazem Krista Boha.“

Léčebně ji doporučuje na kožní onemocnění, zejména otoky či hnisavé záněty.

Konečně jeden z nejproslulejších antických lékařů, Claudius Galénos (129–200/216 po Kr.), ve svém spisu *De simplicium medicamentorum temperamentis ac facultatibus*²⁷ (O povaze a účincích jednoduchých léčiv) uvádí o jmelí následující: „Jmelí se skládá převážně ze vzdušné a teplé vodní látky, jen zcela nepatrně z látky zemské. Neboť jeho ostrost převyšuje hořkost. A tak mu také přísluší účinky odpovídající jeho podstatě. Opravdu silně totiž vytahuje šťávy z hloubky, a to nejen ty řídké, ale i hustší, a rozptyluje je a rozpouští. Patří pak k těm druhům [látek], které nehřejí ihned po přiložení, ale vyžadují čas, podobně jako tapsie [rostlina *Thapsia garganica*].“

Byzantský lékař Paulus Aegineta (okolo 625 až okolo 690) ve své rozsáhlé medicínské encyklopedii *Ἐπιτομή τῆς ἱατρικῆς βιβλίου ἑπτὰ*²⁸ (Sedmero knih shrnujících lékařství) uvádí využití jmelí v prostředku k odstranění ochlupení na pokožce („10 drachem vosku, jedna drachma terpentýnu a dvě drachmy jmelí se s olejem za tepla upraví na náplast“), úpravu nehtů a jiné kožní problémy, dále pro léčbu problémů se strumou, a na skrofulózu.

4.2. Středověk

Nejvýznamnější středověký arabský lékař Ibn Sina (okolo 980 až 1037), známější pod latinizovaným jménem Avicenna, ve svém proslulém díle *al-Kánún fi tibb*²⁹

(Kánon medicíny) v podstatě jen sumarizuje antické názory a poznatky o jmelí, a ve shodě s nimi jej indikuje do přípravků pro léčení otoků, ran a vředů, a pro zlepšení činnosti sleziny.

Z křesťanských autorů zmiňuje jmelí sv. Hildegarda z Bingu (1098–1179), německá mystička, spisovatelka a abatyše benediktinského řádu³⁰. V díle *Physica, sive Subtilitatum diversarum naturarum creaturarum libri novem*³¹ (Přírodověda, aneb devět knih o vlastnostech různých přírodních bytostí) uvádí Hildegarda jmelí z hrušně v několika léčivých směsích pro jeho chladnost a prach z něj doporučuje na bolest hrudníku či plic a léčbu dny.

Český lékař a astronom mistr Křišťan z Prachatic (před 1370 až 1439) ve svém, částečně kompilačním díle *Lékařské knížky z mnohých knih lékařských vybrané*³² (vydaném posthumně 1568), doporučuje jmelí rostoucí na hrušni při léčbě následků cévní mozkové příhody: „*kdo má šlak, že leží nemoha choditi, neb kterýmž kolivěk aude vlásti nemuož, vezmi mejlí z hrušky, a ztluc v moždíři vybera dřívíčko, a směs je s starým sádlem což muožeš najstarší mítí, a maž tím nemocného na horce, a budeť zdráv.*“

Podobně *Staročeské knihy lékařské*³³ (rukopisný sborník z poloviny 15. století dochovaný v Národní knihovně v Praze) uvádějí hned několik využití jmelí. Proti ledvinovému kamenům doporučují jednak práškované jmelí z hlohu považované ve starém pivě, anebo pro muže jabloňové jmelí ztlučené s čistým vínem. Hrušňové jmelí je uváděno k léčbě dny, ať už v podobě „kalku“ (louh získaný z popela rostliny), masti, nebo svažené ve víně. Dubové jmelí je pak doporučováno s „ženným vínem“ (destilovaným vínem, tedy kořalkou) k zajištění hladkého porodu, dále proti „padúcie nemoci“ (epilepsii), zimnici, „hlíze“ (rakovině) i otravě (s odkazem na Plinia Staršího).

4.3. Renesance

Nepřehlédnutelnou postavou renesanční medicíny je bezesporu švýcarský lékař a alchymista Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim (1493–1541), zvaný Paracelsus. Ten mimo jiné zastával názor, že nemoci lidí i léčivé schopnosti rostlin jsou silně závislé na působení hvězd. Rozvinul nauku o signaturách věcí (*signatura rerum*, z lat. signum = znamení), podle níž rostliny, resp. živočichové, disponují zvláštními znaky, obdrženými od Stvořitele, podle nichž lze poznat, jak je lze léčebně využít³⁴. Paracelsus jmelí podle jeho vlastností (stálezelenost, růst proti přirozenému rytmu, jedovatost atd.) přiřadil pod vládu planety Saturn. Ve spise *Von den Krankheiten, so die Vernunft berauben*³⁵ (O nemocech, které zbavují rozumu), vydaném posthumně roku 1567, doporučuje pro léčbu epilepsie přípravek obsahující mimo jiné jmelí z dubu. Dále se jmelí objevuje jako složka mnoha jiných Paracelsem formulovaných léčivých přípravků, zejména pro léčení ran. Například ve spisu *Kleine Wundartzney*³⁶ (Menší chirurgie) z roku 1579 uvádí masť na rány obsahující med, jmelí z buku, květy třezalky, šťávu z aloe a květy větrnice (*Anemonastrum*).

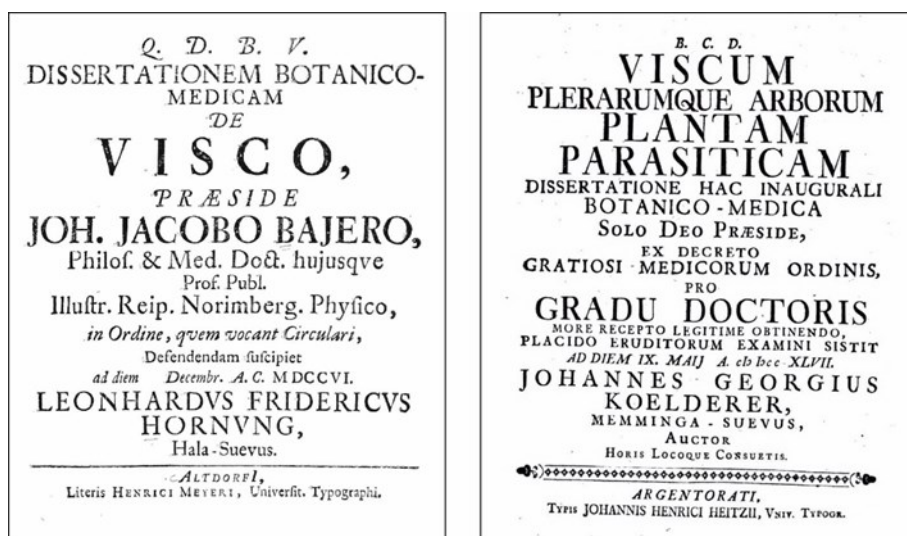
Paracelsův současník, německý botanik a lékař Hieronymus Bock (asi 1498–1554), který uspořádáním rostlin podle příbuznosti zahájil přechod od středověké botaniky k modernímu vědeckému přístupu, ve svém významném díle *De stirpium, maxime earum, quae in Germania nostra nascuntur*³⁷ (O rostlinách, především těch, které rostou v naší Německé zemi) z roku 1552 uvádí vedle indikací navržených antickými autory rovněž, že „*omnia visci genera dum viridia adhuc et recentia sunt cusa, succo extracto auribusquae indito, discutunt collectiones earum, et amolliunt eas intra paucos dies, doloremquae finiunt*“ (ze všech druhů jmelí, dokud jsou ještě zelené a čerstvě sklizené, vytlačena šťáva nakapaná do uší, rozhání jejich hnisavé záněty a změkčuje je, čímž do několika málo dnů bolest ustupuje).

V českých zemích je v té době využití jmelí zmíněno například Janem Černým (asi 1456 až 1530), známým pod humanistickým zlatinizovaným příjmením Niger. Ve svém spisu *Kníha lékařská, kteráž slove herbář aneb zelinář*³⁸ pečlivě rozlišuje jmelí podle hostitelské rostliny. Tak jmelí rostoucí na dubu je – kromě přípravy lepu – „*k lapání píáčat*“ – vhodné zejména k léčbě vředů a kožních problémů, k úpravě nehtů či zmenšení sleziny; přebírá tedy indikace uvedené výše u antických autorů. Hrušňové jmelí doporučuje podávat s dalšími bylinami pro snadný porod. Jmelí rostoucí na hlohu či jabloni pak indikuje pro neurologické obtíže („*pro zbláznění v víně dávají*“).

Renesanční botaniku a farmakologii přivedl k novému vrcholu italský učenec a lékař Pietro Andrea Mattioli (1501–1578), autor rozsáhlého komentáře k výše zmíněnému spisu Dioscoridově nazvaném *Commentarii in sex libros Pedacii Dioscoridis Anazarbei De medica materia*³⁹. Nicméně v kapitole o jmelí pouze shrnuje jeho výše uvedené tradiční indikace a nijak je nerozšiřuje. Podobně činí o generaci mladší, proslulý anglický botanik a lékárník John Parkinson (1567–1650) ve svém díle *Theatrum Botanicum: The Theater of Plants*⁴⁰ z roku 1640. Navíc kromě jmelí bílého uvádí i jmelí indické (*V. indicum*) a peruánské (*V. peruvianum*), což bezpochyby souvisí s rozšířením palety *materia medica* díky evropským zámořským výpravám v 15. až 17. století.

4.4. Doba barokní

O zájmu barokní doby o jmelí a jeho účinky svědčí i univerzitní disertace, věnované této rostlině (obr. 4). Tak v roce 1706 obhajoval Leonard Friedrich Hornung na dnes již neexistující univerzitě v Altdorfu práci *Dissertationem botanico-medicam de visco* (Botanicko-lékařská rozprava o jmelí). Autor se podrobně věnuje původu názvu jmelí v různých jazycích a popisuje morfologii a biologii rostliny (včetně způsobu šíření díky ptákům). Následně uvádí metody sběru a sušení jmelí, včetně doporučení ohledně nejvhodnější doby sklizně, a dále jeho využití v nejrůznějších léčivých přípravcích, především při léčbě epilepsie, krvácení, vysokého krevního tlaku. Zmiňuje i lidové lékařství a pověry se jmelím spojené. Podobnou disertaci *Viscum plerarumque arborum plantam parasiticam*



Obr. 4. Titulní listy barokních lékařských disertací o jmelí. Vlevo práce Leonarda Friedricha Hornunga z roku 1706, vpravo Johanna Georga Kölderera z roku 1747

(Jmelí, parazitická rostlina většiny stromů) obhájoval o 41 let později ve Štrasburku Johann Georg Kölderer. Ten se v souladu s tehdy moderními trendy⁴¹ věnuje i chemickému rozboru jmelí, na základě jeho suché destilace nebo extrakce rostliny vodou či vínem, a to včetně stanovení jednotlivých podílů.

Z dalších autorů tohoto období si zaslouží zmínku londýnský lékárník a lékař John Colbatch (1666–1729), který v roce 1719 publikoval práci *A Dissertation Concerning Mistletoe: a Most Wonderful Specifick Remedy for the Cure of Convulsive Distempers*⁴², v níž vyzdvihuje jmelí jako účinný lék na křečové nemoci, zvláště epilepsii u dětí. Colbatch vycházel z pozorování vysoké úmrtnosti dětí na křeče v tehdejší Londýně a na základě historických lékařských autorit se pokoušel jmelí klinicky aplikovat.

Barokní lékopisy jsou typické složitými, polypragmatickými přípravky. Jejich oblíbenou surovinou byl *Pulvis visci quercini* (prášek z dubového jmelí), zpracováván zejména do přípravků na epilepsii a hysterii⁴³. Jako pozůstatek magických praktik je často požadováno, aby jmelí z dubu bylo „*decescente luna collecti*“ (sbírané za ubývajícího měsíce)⁴⁴. Dále bylo jmelí součástí přípravků i v oblasti kardiovaskulárních a metabolických chorob jako jsou „*slabosti srdce*“ a „*vodnatelnost*“ (edémy), což se mohlo setkat i s úspěchem vzhledem k jeho mírnému diuretickému a vazodilatačnímu účinku^{1,43}. Celkově jmelí zůstávalo ceněnou součástí evropské farmacie a uchovalo si pověst prakticky univerzálního léčiva.

4.5. Novověk

Vzhledem k růstu vědomostí a zvýšené dostupnosti účinnějších léčiv, došlo v průběhu 19. století k značnému posunu pohledu na terapeutický potenciál jmelí. Přestože jmelí zůstalo součástí lidové medicíny, ke konci 19. století

ho většina vědeckých autorit považovala za zastaralý prostředek, jehož účinnost nebyla podložena moderními klinickými daty^{1,12}.

Na počátku 20. století oživil zájem o možné léčivé účinky jmelí francouzský lékař René Gaultier (1875–1942), který studoval vliv čerstvého extraktu z jmelí na krevní tlak a zjistil, že podávání (perorálně či injekčně) tohoto extraktu snižuje krevní tlak a současně zrychluje srdeční tep u zvířat i lidí⁴⁵. Na základě toho byly následně vyráběny různé preparáty k léčbě hypertenze (například přípravek Fraviscum či Viskan) nebo arteriosklerózy (například Ageron)^{4,46}. Dosud je v prodeji čajová směs Alvisan, indikovaná k témuž účelu, která jako majoritní složku obsahuje nať jmelí bílého. Toto tradiční léčebné využití jmelí bylo potvrzeno i novými studiemi. Radenkovic a spol.⁴⁷ prokázali snížení krevního tlaku u pokusných zvířat po podání ethanolického extraktu jmelí a navrhli, že jde o následek interakce látek z této rostliny s muskarinovými receptory.

Dalším příspěvkem k léčebnému využití jmelí je jeho dodnes kontroverzní a hojně diskutované možné využití v onkologické léčbě. Na jeho počátku stál rakouský okultista Rudolf Steiner (1861–1925), který v roce 1916 navrhl využít výtažky z jmelí k léčbě rakoviny^{12,48}. Vycházel z tradiční homeopatické doktríny *similia similibus curantur* (podobné léčí podobné): jmelí jako parazit rostoucí na stromech je analogií nádorového bujení, a proto by mělo působit protinádorově. Ve spolupráci s holandskou lékařkou Itou Wegmanovou (1876–1943) připravili preparát ze jmelí, který se pod různými komerčními názvy (Abnobaviscum, Helixor, Iscador, Iscucin, Isorel) uplatnil jako doplňková terapie u onkologických pacientů. Tento směr podpořili v roce 1965 Vester a Nienhaus⁴⁹, kteří ze jmelí izolovali kancerostatickou frakci, později rozpoznanou jako směs viskotoxinu a lektinů (viz níže). Přes řadu

optimistických zpráv v literatuře však provedené meta-analýzy stále uvádějí ohledně uplatnění jmelí v onkologii neprůkazné výsledky^{50,51}. Nejnověji se uvažuje o možném synergickém efektu přípravků ze jmelí v kombinaci s klasickými chemoterapeutiky, jako je *cis*-platina⁵². Celkově ale platí, že bude zapotřebí více dlouhodobých studií, které by skutečně zhodnotily účinky léčby jmelím při léčbě rakoviny.

5. Obsahové látky jmelí, jejich medicínský význam a toxicita

Jmelí bílé jakožto rostlinný materiál v sobě obsahuje velké množství různorodých látek, od malých organických sloučenin až po vysokomolekulární proteiny, které byly v rostlině identifikovány díky rozvoji analytické chemie^{53–56}. Výskyt těchto látek a jejich koncentrace závisí na mnoha biotických i abiotických faktorech. U jmelí žijícího poloparazitickým způsobem života je složení látek rovněž ovlivňováno hostitelskou rostlinou, tedy dřevinou, na které jmelí roste^{57,58}. Současně vykazuje obsah látek ve jmelí i kolísání během roku; například Urech a spol.⁵⁹ zjistili, že v listech jmelí je největší obsah lektinů v prosinci, zatímco obsah viskotoxinů kulminuje v červnu.

Následující přehled uvádí především ty látky, kterými se jmelí jeví nejvíce pozoruhodné. Stejně jako je jmelí přítomností některých látek zajímavé, tak na sebe strhlo pozornost i kvůli absenci jiných. Svoji jedinečnost, resp. odlišnost, jmelí bílé projevuje i v oblasti metabolismu, neboť se ukázalo, že jako jediný mnohobuněčný eukaryotický organismus zcela postrádá komplex I (NADH dehydrogenasový) v dýchacím řetězci, který slouží jako hlavní vstup elektronů do této metabolické dráhy a podílí se také na vytváření protonmotivní síly sloužící k tvorbě ATP (cit.^{60–62}). Při získu energie se tak jmelí nejspíše spoléhá na hostitelskou rostlinu a jiné (alternativní) respirační enzymy.

Výše uvedené využití jmelí v lidových a alternativních léčivých přípravcích může mít za následek rovněž intoxikaci látkami v něm obsaženými. Kienle a spol.⁶³ na základě metaanalýzy 69 klinických studií a 48 experimentů na zvířatech, při kterých byly podávány extrakty z jmelí bílého, shrnují, že mezi příznaky intoxikace patří zejména zvýšená teplota, alergické reakce, a je zde nebezpečí hepatotoxického poškození. Barker⁶⁴ pak uvádí, že náhodné požití bobulí jmelí z vánoční výzdoby dětmi se projevilo gastrointestinálními problémy a hypertenzí. K léčbě doporučuje laváž žaludku, aktivní uhlí a symptomatickou léčbu. Případ chronické hepatitidy v důsledku používání bylinného přípravku s obsahem jmelí popsali Harvey a Colin-Jones⁶⁵.

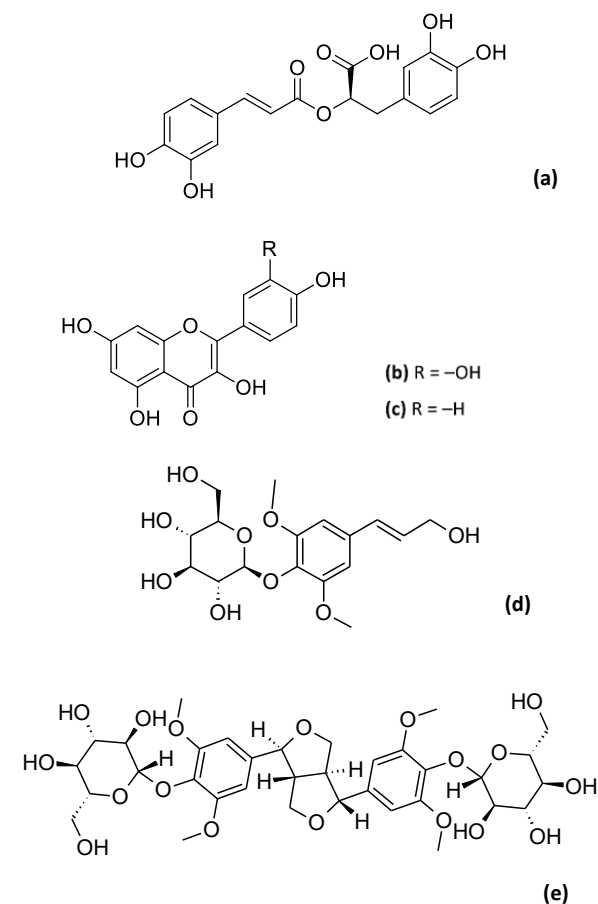
5.1. Fenolické látky

Zmíněnou proměnlivost obsahových látek jmelí v závislosti na hostitelské rostlině lze ilustrovat na výskytu a obsahu fenolických látek ve jmelí rostoucím na různých

dřevinách⁶⁶. Bylo zjištěno, že jmelí rostoucí na jeřábu ptačím (*Sorbus aucuparia* L.) obsahuje vysoký obsah salicylové kyseliny, zatímco ve jmelí rostoucím na jabloni (*Malus domestica* (Suckow) Borkh.) a hrušni (*Pyrus communis* L.) byla z fenolických kyselin dominantní rosmarinová kyselina⁶⁷. Nejvyšší zastoupení fenolických kyselin pak bylo pozorováno ve jmelí z dubu letního (*Quercus robur* L.). Vicaš a spol.⁶⁸ při studiu obsahu fenolických látek ve jmelí rostoucím na různých dřevinách zjistili jejich vysoké zastoupení i ve jmelí rostoucím na jasanu ztepilém (*Fraxinus excelsior* L.). Fenolické kyseliny spolu s flavonoidy (jako je kvercetin, kempferol a jejich glykosidy) a fenylypropanoidy (syringin, eleutherosid E) jmelí vykazují antioxidační a protizánětlivé účinky a snižují krevní tlak^{55,69} (obr. 5).

5.2. Lektiny

Hlavními a nejcharakterističtějšími skupinami látek jmelí jsou ale lektiny jmelí (označované jako viskolektiny)



Obr. 5. Vybraní zástupci fenolických látek obsažených v jmelí bílém (a) rosmarinová kyselina, (b) kvercetin, (c) kempferol, (d) syringin a (e) eleutherosid E

a jim příbuzné viskotoxiny. V obou případech se jedná o skupiny proteinů studované pro cytotoxické a imunostimulační účinky¹.

Lektiny jsou obecně proteiny schopné vázat určité struktury obsahující cukry⁵⁶. Viskolektiny patří mezi proteiny inaktivující ribozomy, mezi které se řadí také například ricin ze skočce obecného (*Ricinus communis* L.), abrin ze sotereku obecného (*Abrus precatorius* L.), či volkensin z rostliny *Adenia volkensii*¹. Lektiny jmelí tvoří více než 2 % celkového obsahu polypeptidů jmelí, mají molekulovou hmotnost od 50 do 63 kDa a jsou syntetizovány ve formě prekurzoru, který je následně posttranslačně rozštěpen na dva řetězce (A a B) vzájemně spojené disulfidovým můstkem. Řetězec B je schopen se vázat na cukerné zbytky membránových proteinů, čímž indukuje svoji endocytózu cílovou buňkou a usnadňuje tak vstup řetězce A dovnitř buňky. Řetězec A následně vykazuje RNA-glykosidasovou aktivitu, a je tedy schopen inaktivovat ribosomy a spouštět apoptózu^{55,70}. Proto jsou lektiny jmelí zodpovědné za protinádorové účinky této rostliny⁷¹.

Dosud byly popsány tři lektiny jmelí (*mistletoe lectins*, ML), které se liší svojí specifitou k cukerným zbytkům. Převažující lektin ML I (také známý jako viscumin) má širokou vazebnou afinitu na galaktopyranosylové zbytky, lektin ML II se váže na *N*-acetyl-D-galaktosamin a D-galaktosu a lektin ML III se váže jen na *N*-acetyl-D-galaktosamin¹. Viskumin je pravděpodobně nejtoxičtější látkou jmelí bílého, je toxicitou srovnatelný s ricinem a má i stejný mechanismus toxického účinku⁷². Dále byl ve jmelí popsán chitin-vázající lektin, označovaný jako visalb-CBA nebo visalb-CBL (cit.¹). V rostlině se obsah lektinů jmelí pohybuje v rozsahu 340–1000 $\mu\text{g g}^{-1}$ suchého rostlinného materiálu.

5.3. Viskotoxiny

Další významnou skupinou polypeptidů jmelí jsou viskotoxiny, amfipatické polypeptidy s molekulovou hmotností okolo 5 kDa, tvořené 46 aminokyselinovými jednotkami s bohatým zastoupením cysteinu, což vede ke stabilizaci konformace tvorbou 3 až 4 disulfidových můstků. Jedná se tedy o peptidové toxiny patřící mezi thioniny a vykazující díky tomu vysokou stabilitu. Viskotoxiny jsou biosyntetizovány ve formě prekurzoru, který je následně posttranslačně upraven^{55,70}. Ve jmelí bílém byla popsána řada izoform, z nichž hlavní jsou A2, A3 a B (cit.^{53,73}), celkový obsah v rostlině se pohybuje v rozmezí 0,05 až 0,1 %. Přestože jsou si jednotlivé viskotoxiny velmi podobné ve své primární struktuře, liší se významně jejich cytotoxicita, která spočívá v rychlém zvýšení propustnosti buněčné membrány, což vede k nekróze zasažených buněk a spuštění apoptózy buněk okolních^{74–76}. Obecně vykazují viskotoxiny přímou cytotoxickou aktivitu vůči různým typům buněk a mohou vyvolat buněčnou smrt narušením integrity buněčné membrány. Vykazují také některé antimikrobiální vlastnosti, například antimykotické účinky, což odpovídá jejich membránovému cíli.

Kromě toho mohou viskotoxiny přispívat i k imunomodulaci.

Viskotoxin poprvé izolovali v roce 1949 Winterfeld a Bijl⁷⁷, kompletní aminokyselinovou sekvenci viskotoxinu popsali v roce 1971 Samuelsson a Pettersson⁷⁸, konečně trojrozměrnou strukturu viskotoxinu vyřešili v roce 2000 Romagnoli a spol.⁷⁹. Toxicitu viskotoxinu (neudáno jaké formy) stanovil Zipf⁸⁰, který pro intravenózní podání na potkanech udává hodnotu 0,260 mg kg^{-1} .

Viskotoxiny jsou látky typické pro jmelí bílé, navíc zastoupení jednotlivých izoform se ukázalo jako charakteristické pro dané poddruhy jmelí bílého, tedy i v závislosti na hostitelské rostlině, a viskotoxiny je tak možné využít k chemotaxonomickému určení rostlinného materiálu⁵⁸.

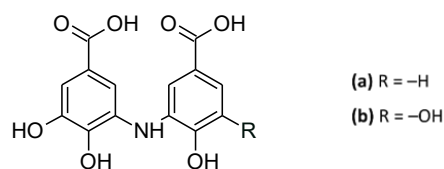
5.4. Alkaloidům příbuzné látky

Další důležitou skupinou dusíkatých látek ve jmelí jsou alkaloidům příbuzné látky. Spolu se zmíněnými lektiny a viskotoxiny jsou studovány pro své možné účinky na léčbu některých typů rakoviny. Amer a spol.⁸¹ v roce 2012 vůbec poprvé identifikovali dva nové aminoalkaloidy ve jmelí bílém (obr. 6). Předtím byly alkaloidy ve jmelí dokázány pouze nespecificky reakcí s Dragendorffovým činidlem⁸². Nově identifikované aminoalkaloidy jmelí představují zcela novou skupinu alkaloidů⁸¹.

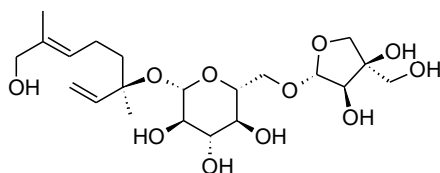
5.5. Terpenoidy

Jmelí bílé také obsahuje mnohé terpenoidy, z nichž byly hlouběji zkoumány zejména triterpeny a triterpenové kyseliny, jelikož by mohly mít vliv na farmakologický účinek přípravků ze jmelí⁸³. Obsah triterpenových kyselin je stejný jako u ostatních látek ve jmelí ovlivněn sezónními změnami i hostitelskou rostlinou, což bylo dokázáno při sledování koncentrací oleanolové a betulinové kyseliny, jakožto nejhojněji zastoupených triterpenových kyselin ve jmelí. Deliorman a spol.⁸⁴ izolovali ze jmelí nový acyklický monoterpenový glykosid (obr. 7).

Jako v mnoha rostlinách jsou i ve jmelí zastoupeny fytosteroly, jako β -sitosterol, stigmasterol, a triterpeny (například β -amyrin).



Obr. 6. Aminoalkaloidy jmelí bílého (a) 3-[(5-karboxy-2-hydroxyfenyl)amino]-4,5-dihydroxybenzoová kyselina a (b) 3,3'-iminobis[4,5-dihydroxybenzoová kyselina]



Obr. 7. Acyklický monoterpenový (3*R*,6*E*)-8-hydroxy-3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-yl-6-*O*-(3-*C*-(hydroxymethyl)-β-*D*-erythrofuranosyl)-β-*D*-glukopyranosid ze jmelí bílého

5.6. Sacharidy

Jako ve všech rostlinách, tak i ve jmelí tvoří významnou skupinu látek sacharidy, kterým je věnována čím dál tím větší pozornost vzhledem k jejich možnému vlivu na farmakologický účinek rostlinných přípravků¹. Studium monosacharidového složení jmelí z lípy a borovice v methanolovém extraktu po kyselé hydrolyze odhalilo přítomnost arabinosy, xylosy, glukosy, galaktosy, mannosy a polyolů xylitolu a inositolu a ukázalo na variabilitu výskytu mezi poddruhy jmelí⁸⁵. Stonky a listy jmelí obsahují zejména vysoce methylesterifikovaný *D*-galakturonan, zatímco v plodech jsou hojně zastoupeny arabinogalaktany⁸⁶. Také je přítomen tannin.

Ve jmelí je také hojně zastoupena celulóza a hemiceľulóza, které mimo jiné tvoří i viscin, lepivý vnitřek plodu skládající se z viscanu a sloužící k zachycení semene na nové větvi. Viscan tvoří 0,7 až 1,8 % sušiny plodů jmelí a skládá se z přibližně 45 % celulósy, 53 % hemiceľulósy a malého množství pektinu⁸⁷. Viscan je uvažován i pro potenciální materiálové aplikace, zejména pro své vlhkostí aktivované samolepicí vlastnosti, které by mohly být využity i pro biomedicínské aplikace⁸⁸.

6. Závěr

Jmelí bílé si během staletí vydobylo místo v evropské medicíně. Od antických autorů, kteří jej uctívali jako všelék na nejrůznější neduhy (od epilepsie po neplodnost), přes středověké a renesanční autority až po moderní dobu představuje jmelí zajímavý příklad léčivé rostliny, jejíž pověst oscillovala mezi panaceou a pověrečným lékem. Novodobý výzkum izoloval z jmelí řadu bioaktivních látek (lektiny, viskotoxiny, flavonoidy, aj.) a částečně potvrdil některé tradičně uváděné účinky, zejména imunomodulační a cytotoxický efekt. Současná medicína tedy nahlíží na jmelí strážlivě: není všelékem, ale v určitých indikacích může posloužit jako doplňkový prostředek. Jmelí tak nadále zůstává předmětem vědeckého zájmu a je příkladem toho, jak se tradiční léčiva mohou uplatnit (byť s výhradami) i v kontextu moderní medicíny založené na důkazech (Evidence-Based Medicine).

LITERATURA

- Büssing A. (ed.): *Mistletoe: The Genus Viscum*. Harwood Academic Publishers, Amsterdam 2000.
- Evans W. C.: *Trease and Evans Pharmacognosy*, 16. vyd. Elsevier, Edinburgh 2009.
- Barnes J., Anderson L. A., Phillipson J. D.: *Herbal Medicines*, 3. vyd. Pharmaceutical Press, London 2007.
- Korbelář J., Endris Z.: *Naše rostliny v lékařství*, 4. vyd. Avicenum, Praha 1973.
- Thomé O. W.: *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Band III*. Köhler, Gera 1888.
- Zuber D.: *Flora 199*, 181 (2004).
- Benabderrahim M. A., Elfalleh W., Sarikurkcı C., Sarikurkcı R. B.: *Ind. Crops Prod.* 141, 111772 (2019).
- Bampali A., Karoutzou O., Katsarou A., Haralampidis K., Skaltsounis L. A., Rhizopoulou S.: *Stresses* 4, 14 (2024).
- Najjarsadeghi S., Nazemiyeh H., Vandghanooni S., Ghanbari H., Hamedeyazdan S.: *Vietnam. J. Chem.* 62, 590 (2024).
- Peñaloza E., Holandino C., Scherr C., de Araujo P. I. P., Borges R. M., Urech K., Baumgartner S., Garrett R.: *Molecules* 25, 4006 (2020).
- Wacnik A., Kupryjanowicz M., Mueller-Bieniek A., Karczewski M.: *Veg. Hist. Archaeobot.* 23, 439 (2014).
- Zänker K. S., Kaveri S. V. (ed.): *Mistletoe: From Mythology to Evidence-Based Medicine*. Karger, Basel 2015.
- Edwards H. G. M., Montgomery J., Melton N. D., Hargreaves M. D., Wilson A. S., Carter E. A.: *J. Raman Spectrosc.* 41, 1533 (2010).
- Hippocrates: *Opera omnia quae extant*. Wechel, Francofurti 1595.
- Aristotle: *Generation of Animals*. Harvard University Press, Cambridge 1943.
- Aristotle: *Meteorologica*. Harvard University Press, Cambridge 1952.
- Aristotle: *History of Animals*. Harvard University Press, Cambridge 1991.
- Theophrastus: *De causis plantarum. Vol. I*. William Heinemann, London 1976.
- Theophrastus: *Enquiry into Plants. Books I–V*. Harvard University Press, Cambridge 1999.
- Strabon: *The Geography of Strabo. Vol. VII*. William Heinemann, London 1930.
- Virgil: *Eclogues, Georgics, Aeneid I–VI*. William Heinemann, London 1916.
- Acker P., Larrington C. (ed.): *The Poetic Edda. Essays on Old Norse Mythology*. Routledge, London 2002.
- Kanner L.: *Bull. Hist. Med.* 7, 875 (1939).
- Pliny: *Natural History. Vol. I–IX*. Harvard University Press, Cambridge 1961.
- Celsus A. C.: *De medicina. Vol II*. William Heinemann, London 1961.

VÝROBA KARDENOLIDŮ V GALENĚ OPAVA

LADISLAV CYAK

Mihulka s. r. o., Přemyslovců 47, 74601 Opava, Česká republika
elce@centrum.cz

Došlo 4.6.25, přijato 30.6.25.

Postupy na výrobu kardenolidů byly po 2. světové válce vyvinuty ve Výzkumném ústavu přírodních léčiv v Praze. Koncem padesátých let byla v Galeně Opava zahájena výroba, nejdříve lanatosidu ABC, později i čistého lanatosidu C a digoxinu. K dělení směsi lanatosidů byla používána technika tzv. protiproudého roztřepávání (craigování), dnes už málo využívaná. Výroba pokrývala potřebu těchto aktivních substancí v tehdejší Československu, ale kvůli špatné kvalitě výchozí suroviny (sušené listy náprstníku vlnatého) nebyla konkurenceschopná pro export. Proto byla výroba v roce 1983 ukončena a na uvolněné extrakční lince byla zahájena výroba silymarinu, který firma, dnes TAPI Opava, vyrábí dosud.

Klíčová slova: kardenolidy, lanatosid C, digoxin, silymarin, Galena Opava, historie výroby léčiv

Obsah

1. Úvod
2. Digitalisové glykosidy
3. Kardenolidy jako léčiva
4. Výroba kardenolidů v Galeně Opava
5. Výroba lanatosidu C
6. Výroba digoxinu a dalších kardenolidů
7. Proč byla výroba kardenolidů v Galeně ukončena

1. Úvod

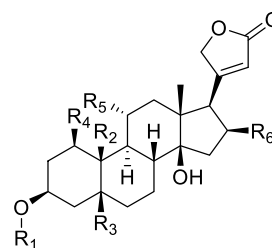
Kardiotonické glykosidy neboli kardenolidy jsou přírodní látky obsahující steroidní aglykon. Ještě v nedávné minulosti to byla jediná léčiva, které měl lékař k dispozici při léčbě srdeční nedostatečnosti. Jejich obecná struktura je uvedena na obrázku 1. Steroidní aglykon obsahuje v poloze 17 β enolidový kruh a vyznačuje se málo obvyklým *cis* napojením kruhů C a D. Rovněž kruhy A a B mívají obvykle *cis* napojení, které už ale není nutné pro zachování kardioaktivity. Aglykon má vždy v poloze 14 β terciární hydroxylovou skupinu a v poloze 3 β sekundární hydroxylovou skupinu, na níž je glykosidickou vazbou připojena cukerná složka. Ta vykazuje velkou variabilitu, jak co do počtu sacharidových jednotek, tak jejich struktury, často obsahuje deoxysacharidy. Vedle hydroxylových skupin v polohách 3 a 14 může steroidní aglykon obsahovat i další –OH skupiny v různých polohách a některé kardenolidy mají v poloze 10 β místo methylové skupiny hydroxymethyl nebo formyl.

Kardenolidy jsou v přírodě poměrně hojně zastoupené, zejména v rodech *Digitalis*, *Strophanthus* a *Adonis*. Digitalisovým glykosidům je věnována samostatná kapitola.

Z ostatních kardenolidů zmíním jenom 4 látky:

- k-strophanthin byl izolován z plodů krutikvětu (*Strophanthus gratus*),
- ouabain byl izolovaný původně z kořene afrického stromu *Acokanthera ouabaio* a později se zjistilo, že stejná látka byla izolována i z plodů krutikvětu a nazvána g-strophanthin,
- adonitoxin byl izolován z nati hlaváčku (*Adonis vernalis*) a
- convallatoxin z listů konvalinky (*Convallaria majalis*).

Do stejné skupiny látek jako kardenolidy se obvykle řadí i jejich analogy obsahující v poloze 17 šestičlenný dienolidový cyklus. Typické látky této skupiny jsou tzv.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
k-strophanthin	D-cymarosa-D-glukosa	CHO	OH	H	H	H
ouabain	L-rhamnosa	CH ₂ OH	OH	OH	OH	H
adonitoxin	L-rhamnosa	CHO	H	H	H	OH
convallatoxin	L-rhamnosa	CHO	OH	H	H	H

Obr. 1. Obecný vzorec kardenolidů a struktura vybraných kardenolidů



Obr. 2. Náprstník červený (cit.³) a náprstník vlnatý (cit.⁴)

ropuší jedy neboli bufadienolidy, například bufotoxin a glykosidy izolované z mořské cibule (*Urginea maritima*), například proscillaridin nebo scilorosid.

Ačkoliv se rostliny obsahující kardenolidy používaly v lékařství už v době antiky, kardiotonická aktivita náprstníku červeného byla popsána až koncem 18. století a od té doby začal systematictější výzkum jak účinků, tak obsahových látek. V roce 1875 byl izolován digitoxin a v roce 1888 ouabain¹. K velkému pokroku ve výzkumu pak došlo zejména díky farmaceutické firmě Sandoz ve dvacátých a třicátých letech dvacátého století, kdy byly vypracovány postupy na izolaci glykosidů náprstníku a mnohé z nich byly zavedeny do terapeutické praxe². O tom bude pojednáno v samostatné kapitole. Za zmínku stojí i jejich jiné využití – strofantové glykosidy se používaly v Africe jako součást tzv. šípových jedů a scilorosid se používal jako jed na krysy (podobně jako strychnin).

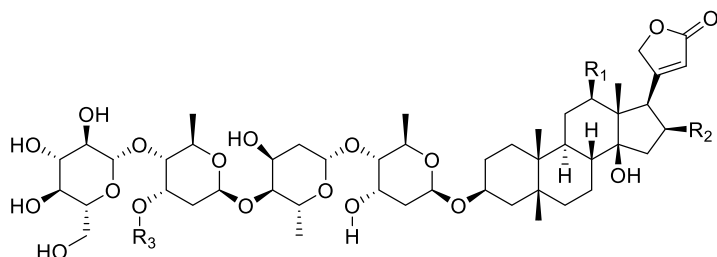
2. Digitalisové glykosidy

Jako digitalisové glykosidy jsou označovány kardenolidy izolované z rostlin rodu *Digitalis*. Ten zahrnuje

zejména u nás hodně rozšířený a dekorativní náprstník červený (*Digitalis purpurea*) a méně výrazný náprstník vlnatý (*Digitalis lanata*), pocházející ze středomoří, viz obr. 2.

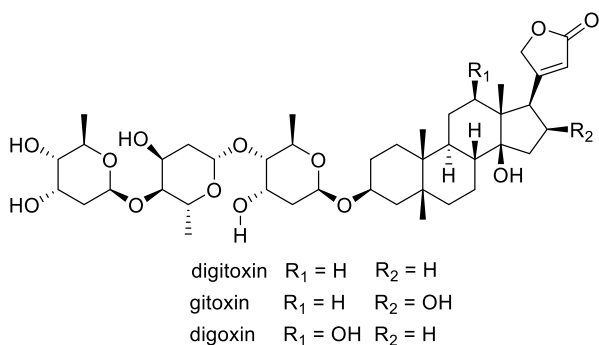
Digitalisové glykosidy lze rozdělit na glykosidy primární a sekundární. Jako primární se označují ty, které jsou přítomny v čerstvých rostlinách. Obsahují steroidní aglykon a čtyři monosacharidy, tři jednotky deoxysacharidu digotoxosu a jednotku glukosu. Glykosidy náprstníku červeného se označují jako purpureaglykosidy. Glykosidy náprstníku vlnatého, které mají navíc na třetí digitoxose acetylovou skupinu se nazývají lanatosidy. Podle počtu a polohy hydroxylových skupin na steroidním aglykonu se dělí na glykosidy řady A, B a C (existují i řady D a E, ale ty už jsou méně běžné a méně důležité). Struktury a názvy primárních glykosidů jsou uvedeny na obr. 3. Náprstník červený neobsahuje glykosidy řady C, a proto se odpovídající analog nazývá desacetyl lanatosid C (cit.⁵).

Sekundární glykosidy vznikají z primárních enzymatickým odštěpením jedné nebo i více sacharidových jednotek. Nejznámější a nejdůležitější jsou glykosidy vznikající odštěpením koncové glukosu a acetylové skupiny z lanatosidů A, B a C, které se nazývají digitoxin, gitoxin



	R ₁	R ₂	R ₃
lanatosid A	H	H	Ac
purpureaglykosid A	H	H	H
lanatosid B	H	OH	Ac
purpureaglykosid B	H	OH	H
lanatosid C	OH	H	Ac
desacetyl lanatosid C	OH	H	H

Obr. 3. Primární glykosidy náprstníku červeného a náprstníku vlnatého



Obr. 4. Sekundární glykosidy náprstníku vlnatého

a digoxin, viz obr. 4. Samotné odpovídající aglykony se pak nazývají digitoxigenin, gitoxigenin a digoxigenin.

3. Kardenolidy jako léčiva

Až do objevu nových syntetických léčiv v polovině dvacátého století byly kardenolidy prakticky jedinými léčivy, která měli lékaři k dispozici k léčbě srdeční nedostatečnosti. Váží se na sodno-draselnou ATPasu, což je transmembránový protein pracující jako buněčná pumpa, která ovlivňuje množství sodíku a vápníku v buňce, a tím dochází v myokardu k silnější kontrakci. Srdeční glykosidy obvykle i snižují srdeční frekvenci a prodlužují čas kontrakce. O jejich významu svědčí fakt, že celkem bylo do terapie zavedeno 15 látek a také, že v knize *Chemická léčiva* vydané v roce 1987 bylo kardenolidům věnováno 17 stran textu⁶. Ještě v osmdesátých letech minulého století obsahoval Československý lékopis⁷ následující kardenolidy: digitoxin, acetyldigitoxin, lanatosid C, digoxin, deslantosid a ouabain. V zahraničí se používaly ještě mnohé další látky: acetyldigoxin, k-strofantin, konvallatoxin a proscillaridin. Vesměs se jednalo o přírodní látky, jediný semisyntetický kardenolid zavedený do praxe byl methyldigoxin.

4. Výroba kardenolidů v Galeně Opava

Postupy pro pěstování náprstníku vlnatého a na izolaci jeho glykosidů byly vyvinuty v bývalém Výzkumném ústavu přírodních léčiv v Praze-Hloubětíně (VÚPL, od roku 1967 se VÚPL stal součástí Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii, VÚFB). Skupinu agronomickou vedl František Starý a skupinu chemickou Josef Pitra. Pěstování náprstníku zajišťoval podnik Léčivé rostliny Zbraslav. Izolaci účinných látek svěřila firma Spofa Galeně Opava (Léčivé rostliny i Galena byly podniky Spofy, stejně jako už zmíněné výzkumné ústavy VÚPL a VÚFB). Podnik Léčivé rostliny si vlastní pěstování zajišťoval u soukromých zahradníků, jejichž činnost byla i za hlubokého socialismu tolerována. Jeden takový pěstitel ve

Strážnici na jižní Moravě mi vyprávěl, že pěstování náprstníku nebylo jednoduché. Osivo náprstníku vzchází velmi pomalu a až po celosezónní péči se vypěstují mohutné rostliny. Náprstník vlnatý je dvouletá rostlina, první rok vytvoří jenom bohatou listovou růžici a druhý rok vyžene lodyhu s květem. Pro farmaceutické účely se sklízí listy v prvním roce. Listy se sklízely na podzim ručně, nožem či srpem. Někde sklizenou drogu zahradníci i sami sušili (volně v kůlnách), jinde měl podnik Léčivé rostliny sušárny. Ve Strážnici byla výkonná pásová sušárna (starší čtenáři si takové sušárny pamatují z chmelových brigád). Do Galeny přicházela droga *Digitalis lanata* z Léčivých rostlin v pytlích už pořezaná.

5. Výroba lanatosidu C

Hlavním vyráběným kardenolidem v Galeně byl lanatosid C. Výroba byla založena na původním postupu A. Stolla⁸, který byl výzkumníky z VÚFB⁹ a později i z Galeny¹⁰ v detailech modifikován. Výroba byla zahájena už na konci padesátých let, ale naplno se rozjela až v roce 1963, kdy byl uveden do provozu nový provoz extrakce. Ten zahrnoval tzv. „velkou baterii perkolátorů“ (4 extraktory po 3000 litrech), která byla využívána k extrakci námele (*Claviceps purpurea*), dále „malou baterii“ (4 × 300 l) užívanou většinou k extrakci kořene rulíku (*Atropa belladonna*) a tzv. U-extraktor, který byl zakoupen právě na extrakci náprstníku (*Digitalis lanata*). Autor tohoto textu nastoupil do Galeny na oddělení Výzkumu a vývoje v roce 1977, a protože pracovník, který se digitalisovými glykosidy zabýval, právě odešel, dostal za úkol i pečovat o další rozvoj této výroby. To se nezdařilo, neboť výroba kardenolidů byla v roce 1983 ukončena (důvody k tomuto konečnému stavu budou ještě popsány).

Jak už bylo uvedeno, extrakce drogy náprstníku vlnatého probíhala od roku 1963 na tzv. U-extraktoru. Jednalo se o rouru o průměru 30 cm stočenou do oválu o šířce 4 m a výšce 8 m. Roura měla duplikaci, a tak bylo možno extrakci provádět při zvýšené teplotě (50 °C). V rouře se pohyboval řetěz s děrovanými hrably, jehož rychlost se dala nastavit, běžně byla doba oběhu cca 8 h. Do extraktoru se šnekovým dopravníkem přiváděla extrahovaná droga a ta byla řetězem posunována. V protisměru protékalo extrakční rozpouštědlo – methanol. Methanolu se vyextrahovaná droga zbavovala v kontinuálním lisu. U-extraktor byl maďarský výrobek a v Galeně se mu říkalo danajský dar. Byl poruchový, účinnost extrakce byla nevalná a odstranění methanolu nedokonalé, vyextrahovaná droga se musela na vlečce dlouho nechávat odvětrat, než bylo možné ji odvézt do kompostárny. Proto také, když byla volná kapacita na velké perkolační baterii, tak se extrakce náprstníku převáděla tam. Od té doby je autor tohoto textu vyléčen z víry v kontinuální extraktory podobné konstrukce. Za nejlepší extraktor pro pevnou biomasu považuje baterii perkolátorů.

Kapacita U-extraktoru byla cca 1500 kg suché drogy za 24 h, extrahovalo se 90% vodným methanolem a získa-

lo se cca 10 000 litrů tzv. primárního extraktu. Ten se odpařoval na cirkulačních odparkách a koncentrát se převáděl do vody. Získaný destilát tudíž obsahoval vodu a pro opětovné použití se rektifikoval, ale i tak obsahoval methanol používaný k extrakci cca 10 % vody. Získaný koncentrát byl zelený a chlorofylu se zbavoval extrakcí diethyletherem. Etherový extrakt se používal k izolaci chlorofylu, který byl vedlejším produktem. Odbarvený koncentrát obsahoval ether, kterého se zbavoval na expanzní odparce: teplý koncentrát se rozstříkával do evakuované komory, kde se ether odpařil. V dalším stupni se pak z rafinovaného vodného koncentráту extrahovaly lanatosidy směsí chloroformu a 1-butanolu a získaný extrakt se odpařil na koncentrát lanatosidů. Na tyto dva stupně se používaly na tehdejší dobu moderní zařízení, a to odstředivý extraktor od firmy Westfalia a filmová odstředivá odparka Liprotherm na odpaření butanolu.

Z koncentráту lanatosidů se pak už krystalizací z methanolu získával tzv. směsný lanatosid ABC, který byl v padesátých letech prvním v Československu vyráběným kardenolidem, ale už na začátku let šedesátých byla zahájena výroba čistého lanatosidu C. K izolaci lanatosidu C ze směsného lanatosidu bylo použito tzv. frakční roztrpávání. Dnes by se k podobnému účelu použila chromatografie, ale průmyslová preparativní chromatografie byla tehdy v začátcích, kdežto roztrpávání byla už technika běžná. Vymyslel ji L. C. Craig, a proto se ji někdy říkalo craigování¹¹. Laboratorní craigovací aparát se dříve používal na ÚOCHB v Praze. Pokročilou verzí roztrpávání jsou dnešní moderní techniky – Liquid Liquid Counter Current Chromatography (LLCCC) a Centrifugal Partition Chromatography (CPC), ale ty pracují šaržovitě, kdežto craigování bylo technikou kontinuální. V Galeně se lanatosidy dělily soustavou chloroform – dichlorethan – methanol – voda, která vytvořila lehkou a těžkou fázi. Provozní verze¹² měla 13 děliček o objemu 50 litrů s míchadlem. Do prostřední děličky se dával lanatosid ABC, zprava se dávala těžká fáze a zleva lehká fáze. Polárnější lanatosid C se koncentroval ve vodné lehké fázi, a proto lanatosid C odcházel ze systému v lehké fázi vpravo, kdežto lanatosidy A a B v těžké fázi vlevo. Takové dělení se dalo přesně nastavit poměrem polárnějšího chloroformu a méně polárního dichlorethanu v těžké fázi. Při roztrpávání v laboratoři se děličky ve stojanech skutečně posunovaly, takže střed systému byl vždy uprostřed, ve výrobě to samozřejmě nešlo, a tak se střed systému posuňoval, u kontinuální chromatografie se dnes takovému systému říká SMB (simulated moving bed). Z výstupní lehké fáze se pak krystalický lanatosid C získával odpařením methanolu a dále se ještě čistil rekrystalizací z methanolu. V prvních letech se odpařením těžké fáze izoloval i lanatosid AB, později se těžká fáze odpařovala jenom kvůli regeneraci rozpouštědel, koncentrát se spaloval.

Techniku roztrpávání jsme se ještě na začátku osmdesátých let ve spolupráci s Jaroslavem Procházkou a Alešem Heybergerem z tehdejšího ÚTZCHT (Ústavu teoretických základů chemické techniky, dnes Ústav chemických procesů AV ČR) pokoušeli celkem úspěšně převést na

vibrační kolonu¹³, ale zachránit výrobu kardenolidů už se nám nepovedlo z důvodů uvedených dále. Také se nepodařilo zavést i další postupy, třeba paralelní získávání lanatosidu C a digoxinu¹⁴. Droga náprstníku vždy obsahuje vedle glykosidů primárních (lanatosid C) i glykosidy sekundární (neboť hydrolytické enzymy pracují i v době mezi sklizní a sušením), v řadě C to jsou digoxin a acetyldigoxin, kterých dohromady bylo v droze téměř stejné množství jako lanatosidu C. Proto jsme před extrakci lanatosidů směsí chloroformu a butanolu z rafinovaného vodného koncentrátu zařadili ještě extrakci samotným chloroformem, do kterého přešly právě digoxin a acetyldigoxin a ze získaného koncentrátu se digoxin izoloval.

Hlavním problémem výroby lanatosidu C byla skutečnost, že se vycházelo z drogy s velmi nízkým obsahem lanatosidu C, jen kolem 0,1 %. Tím byla dána i nízká výrobní kapacita, denně se vyrobil 1 kg lanatosidu C a roční výroba byla několik set kilogramů. Toto množství sice pokrylo potřebu pro Československo, ale při vysokých výrobních nákladech, které byly způsobeny hlavně nízkým obsahem kardenolidů v droze, byly možnosti vývozu substance do zahraničí limitovány.

6. Výroba digoxinu a dalších kardenolidů

Digoxin je možno vyrábět buď z lanatosidu C, anebo ho izolovat přímo z drogy po enzymatické hydrolýze. V Galeně byla zavedena výroba digoxinu enzymatickou hydrolýzou lanatosidu C. V prvních letech se využíval komerčně dostupný enzym takadiastasa, později byl úspěšně nahrazen enzymem získaným extrakcí pšeničných otrub vodou. Digoxinu se vyrábělo ročně okolo 50 kg.

Mnohem ekonomičtější by však byla izolace přímo z drogy. O to se naši předchůdci v Galeně pokoušeli na začátku sedmdesátých let, ale tehdy neuspěli, v laboratoři prý to fungovalo, ale ve výrobě to nezvládli. Podruhé jsme se o to pokusili na začátku let osmdesátých¹⁵. Droga se navlhčila vodou a nechala se fermentovat 24 hodin v nádobách. Teprve pak se extrahovala methanolem a stejně jako u drogy nefermentované, primární extrakt se odpařil, vodný koncentrát se zbavil chlorofylu extrakcí etherem a z rafinovaného koncentrátu se získaly sekundární glykosidy extrakcí chloroformem. Získaná směs obsahující zejména digitoxin, gitoxin a digoxin se pak opět dělila roztrpáváním, kde těžká fáze obsahovala jenom dichlorethan. Postup byl zaveden do výroby, ale digoxinu se stačilo vyrobit jen málo, protože v roce 1983 byla výroba kardenolidů zastavena.

Posledním kardenolidem, který se běžně vyráběl, byl desacetyl lanatosid C (deslanatosid). Používal se pro výrobu injekcí a vyráběl se z lanatosidu C alkalickou deacetylací. Byla to malá výroba, produkující jen cca 10 kg ročně.

Kromě uvedených produktů byly ještě snahy vyrábět další kardenolidy, například acetyldigitoxin či methyl-digoxin, ale ty se nikdy nevyráběly pravidelně. Až dlouho po ukončení výroby kardenolidů se nám podařilo vyrobit ze starých zásob lanatosidu AB digitoxigenin a prodat ho

italské firmě Sigma-Tau, která ho využívala na syntézu nějakého nového produktu, ale i ten projekt byl později ukončen.

7. Proč byla výroba kardenolidů v Galeně ukončena

Výroba kardenolidů v Galeně byla ukončena v roce 1983 a důvodů pro ukončení programu kardenolidů bylo více. Jak už bylo uvedeno výše, ten hlavní spočíval v používané surovině, droze *Digitalis lanata*. Ta naše obsahovala velmi málo lanatosidu C, jenom kolem 0,1 %, zatímco naši konkurenti měli drogu s obsahem až 0,5 %. Ironií osudu bylo, že v osmdesátých letech šlechtila Irena Spitzová ve VÚFB novou odrůdu. Šlechtění bylo ukončeno až na konci osmdesátých let a její odrůda Progress dávala drogu s obsahem lanatosidu C téměř 1 %. Na začátku devadesátých let jsme uvažovali o obnovení výroby kardenolidů s novou surovinou, ale nakonec jsme usoudili, že na trhu už není místo pro dalšího výrobce (inu – nevstoupíš dvakrát do stejné řeky).

Výroba kardenolidů byla pracná a vázala hodně pracovníků i výrobního zařízení. Uvolnění kapacity bylo třeba zejména pro prudce se rozvíjející výrobu námelových alkaloidů a také pro nové projekty. Takovým novým projektem, který čekal na realizaci, byla výroba silymarinu. Silymarin je extrakt ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*), obsahující směs flavonolignanů, používá se jako hepatoprotektivum, dnes ale hlavně jako potravní doplněk. V osmdesátých letech byl veden jako léčivo a na zavedení jeho výroby v Československu byl dost velký tlak (asi lobbing alkoholiků ve vyšších orgánech). Samozřejmě že někoho napadlo, že v Galeně zrušíme kardenolidy a na uvolněné extrakční kapacitě budeme extrahovat ostropestřec a vyrábět silymarin. Výroba silymarinu byla v Galeně skutečně zahájena v roce 1983 a až do roku 1990 se substance vyráběla jenom pro Československo. Po roce 1990 byla výroba významně rozšířena a silymarin se začal exportovat. Kolem roku 2000 vyráběla, už ne Galena, ale firma IVAX, 60 tun substance ročně. Silymarin se v továrně, nyní už TAPI Czech Republic, vyrábí dosud.

Ke zrušení výroby kardenolidů přispěla i situace na trhu. Galena vyráběla kardenolidy jen pro Československo. Okolní socialistické země (NDR, Polsko a Maďarsko) měly vlastní výroby, a tak nebyl problém nahradit chybějící substance dovozem. Digoxin i lanatosid C se po zrušení jejich výroby v Galeně v roce 1983 začaly dovážet z NDR.

LITERATURA

1. Vystrčil A., v knize: Černý V., Fajkoš J., Heřmánek S., Janata V., Protiva M., Schwarz V., Syhora K., Sýkora V., Šantavý F., Vystrčil A.: *Chemie steroidních sloučenin*. kapitola Kardiotonické steroidy. Práce ČSAV, Sekce chemická. Nakladatelství ČSAV, Praha 1960.
2. Stoll A.: *The Cardiac Glycosides*. The Pharmaceutical Press, London 1937.
3. Cvak L.: Fotografie *Digitalis purpurea*.
4. Plaček J.: <https://www.flora-cs.com/foto/cz/128642/>, staženo 20. 6. 2025
5. Spilková J. a kolektiv: *Farmakognozie*. Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, Praha 2016.
6. Melichar B. a kolektiv: *Chemická léčiva*. Avicenum, Praha 1987.
7. Československý lékopis. ČSL 4, Avicenum, Praha 1987.
8. Stoll A., Kreis W.: *Helv. Chim. Acta* 16, 1049 (1933).
9. Pitra J., Čekan Z.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 28, 2303 (1963).
10. Pitra J. a kolektiv: Patent CS 231 299 (1987).
11. Craig L. C., Gregory J. D., Barry G. T.: *Studies on polypeptides and amino acids by countercurrent distribution*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 14, 24 (1950).
12. O'Keeffe A. E., Dolliver M. A., Stiller E. T.: *J. Am. Chem. Soc.* 71, 2452 (1949).
13. Cvak L. a kolektiv: Patent CS 219423 (1985).
14. Cvak L. a kolektiv: Patent CS 232280 (1986).
15. Cvak L. a kolektiv: Patent CS 233669 (1986).

**L. Cvak (Mihulka s. r. o., Opava, Czech Republic):
Production of Cardenolides in Galena Opava**

Procedures for manufacture of cardenolides were developed in VÚPL Prague after the World War II and in the end of fifties their manufacture started in Galena Opava. lanatoside ABC was produced first, followed by pure lanatoside C and digoxine. The technique of countercurrent partitioning (the Craig partitioning) was utilized for the separation of lanatosides. The manufacture of cardenolides covered the consumption in former Czechoslovakia but due to a low content of lanatoside C in the biological starting material (dried leaves of *digitalis lanata*), it was not competitive for export. Therefore, the manufacture was terminated in 1983, and the free extraction capacity was used to prepare silymarin, which is still produced by the company, today TAPI Opava.

Keywords: cardenolides, lanatoside C, digoxine, silymarin, Galena Opava, history of manufacture of drugs



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoli média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

26. Dioscorides P.: *De materia medica*. Ibidis Press, Johannesburg 2000.
27. Kühn C. G. (ed.): *Medicorum graecorum opera quae exstant. Vol. XI*. Carolus Cnoblochius, Lipsiae 1826.
28. Aegineta P.: *The Seven Books of Paulus Aegineta. Vol. I–III*. Sydenham Society, London 1844.
29. Avicenna: *Canon medicinae*. Junta, Venetiis 1595.
30. Hozenski B. W. (ed.): *Hildegard's Healing Plants*. Beacon Press, Boston 2001.
31. von Bingen H.: *Physica*. Healing Arts Press, Rochester 1998.
32. z Prachatic K.: *Lekaršské knihy, z mnohých knih lékařských vybrané*. Jan Had Kantor, Staré Město Pražské 1568.
33. Černá A. M.: *Staročeské knihy lékařské*. Host, Brno 2006.
34. Bennett B. C.: *Econ. Bot.* 61, 246 (2007).
35. Paracelsus: *Von den Kranckheiten, so die Vernunft berauben*. Peter Perna, Basel 1567.
36. Paracelsus: *Kleine Wundartzney*. Peter Perna, Basel 1579.
37. Bock H.: *De stirpium, maxime earum, quae in Germania nostra nascuntur usitatis nomenclaturis*. Wendel Rihel, Argentoratum 1552.
38. Černý J.: *Knihy lékařská kteraž slowe herbarz: aneb zelinarz*. Mikuláš Klauďán, Norimberk 1517.
39. Mattioli P. A.: *Commentarii in libros sex Pedacii Dioscoridis Anazarbei De medica Materia*. Vincetius Valgrisius, Venetiis 1554.
40. Parkinson J.: *Theatrum Botanicum, The Theater of Plants, or An Universal and Compleate Herball*. Thomas Cotes, London 1640.
41. Stroup A.: *A Company of Scientists. Botany, Patronage, and Community at the Seventeenth-Century Parisian Royal Academy of Sciences*. University of California Press, Berkeley 1990.
42. Colbatch J.: *A Dissertation Concerning Mistletoe: A Most Wonderful Specifick Remedy for the Cure of Convulsive Distempers*. William Churchill, London 1719.
43. Triller D.: *Dispensatorium pharmaceuticum universale. Tomus secundus*. Varrentrapp, Francofurtum 1764.
44. kol.: *Dispensatorium medico-pharmaceuticum Pragense*. Vetro-Pragae 1739.
45. Gaultier R.: *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 20, 97 (1910).
46. Sirový V.: *Příručka lékárnických specialit*. Nákl. vlastním, Praha 1926.
47. Radenkovic M., Ivetic V., Popovic M., Brankovic S., Gvozdenovic L.: *Clin. Exp. Hypertens.* 31, 11 (2009).
48. Kienle G. S., Kiene H.: *Eur. J. Med. Res.* 12, 103 (2007).
49. Vester F., Nienhaus J.: *Experientia* 21, 197 (1965).
50. Horneber M., van Ackeren G., Linde K., Rostock M.: *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003297.pub2>, staženo 23. 4. 2025.
51. Schraub S.: *Support. Care. Cancer* 8, 10 (2000).
52. Lyu S. Y., Meshesha S. M., Hong C. E.: *Int. J. Mol. Sci.* 26, 366 (2025).
53. Song C., Wei X. Y., Qiu Z. D., Gong L., Chen Z. Y., Ma Y., Shen Y., Zhao Y. J., Wang W., Lai C. J. S., Yang B.: *J. Ethnopharmacol.* 277, 114233 (2021).
54. Szurpnicka A., Kowalczyk A., Szterk A.: *Arch. Pharm. Res.* 43, 593 (2020).
55. Nazaruk J., Orlikowski P.: *Nat. Prod. Res.* 30, 373 (2016).
56. Nicoletti M.: *Plants* 12, 1460 (2023).
57. Gärtner T., Link K., Müller M. B., Stintzing F. C., Kammerer D. R.: *Phytomedicine* 22, S24 (2015).
58. Schaller G., Urech K., Grazi G., Giannattasio M.: *Planta Med.* 64, 677 (1998).
59. Urech K., Schaller G., Jäggy C.: *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 56, 428 (2006).
60. Senkler J., Rugen N., Eubel H., Hegermann J., Braun H. P.: *Curr. Biol.* 28, 1606 (2018).
61. Busch K. B.: *Curr. Biol.* 28, R616 (2018).
62. Maclean A. E., Hertle A. P., Ligas J., Bock R., Balk J., Meyer E. H.: *Curr. Biol.* 28, 1614 (2018).
63. Kienle G. S., Grugel R., Kiene H.: *BMC Complement. Altern. Med.* 11, 1 (2011).
64. Baker M. D.: *Pediatr. Emerg. Care* 1, 210 (1985).
65. Harvey J., Colin-Jones D. G.: *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)* 282, 186 (1981).
66. Kleszken E., Purcarea C., Pallag A., Ranga F., Memeite A. R., Miere F., Vicas S. I.: *Plants* 11, 3021 (2022).
67. Łuczkiwicz M., Cisowski W., Kaiser P., Ochocka R., Piotrowski A.: *Acta Pol. Pharm.* 58, 373 (2001).
68. Vicaș S. I., Rugină D., Leopold L., Pintea A., Socaci C.: *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca* 39, 48 (2011).
69. Stefanucci A., Zengin G., Llorent-Martinez E. J., Dimmito M. P., Della Valle A., Pieretti S., Ak G., Sinan K. I., Mollica A.: *J. Food Biochem.* 44, e13377 (2020).
70. Schröder L., Hohnjec N., Senkler M., Senkler J., Küster H., Braun H. P.: *Plant J.* 109, 278 (2022).
71. Franz H.: *Oncology* 43 (Suppl. 1), 23 (1986).
72. Krauspenhaar R. a 12 spoluautorů: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 257, 418 (1999).
73. Schaller G., Urech K., Giannattasio M.: *Phytother. Res.* 10, 473 (1996).
74. Giudici M., Pascual R., de la Canal L., Pfüller K., Pfüller U., Villalaín J.: *Biophys. J.* 85, 971 (2003).
75. Büssing A., Vervecken W., Wagner M., Wagner B., Pfüller U., Schietzel M.: *Cytometry* 37, 133 (1999).
76. Büssing A., Stein G. M., Wagner M., Wagner B., Schaller G., Pfüller U., Schietzel M.: *Eur. J. Biochem.* 262, 79 (1999).
77. Winterfeld K., Bijl L. H.: *Justus Liebigs Ann. Chem.* 561, 107 (1949).
78. Samuelsson G., Pettersson B. M.: *Eur. J. Biochem.* 21, 86 (1971).

79. Romagnoli S., Ugolini R., Fogolari F., Schaller G., Urech K., Giannattasio M., Ragona L., Molinari H.: *Biochem. J.* 350, 569 (2000).
80. Zipf H. F.: *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 209, 165 (1950).
81. Amer B., Juvik O. J., Dupont F., Francis G. W., Fossen T.: *Phytochem. Lett.* 5, 677 (2012).
82. Khwaja T. A., Dias C. B., Pentecost S.: *Oncology* 43 (Suppl 1), 42 (1986).
83. Wójciak-Kosior M., Sowa I., Pucek K., Szymczak G., Kocjan R., Luchowski P.: *Pharm. Biol.* 55, 1 (2017).
84. Delionman D., Çalış İ., Ergun F.: *Fitoterapia* 72, 101 (2001).
85. Arda N., Önay E., Koz Ö., Kırmızıgül S.: *Biologia (Bratislava)* 58, 1037 (2003).
86. Jordan E., Wagner H.: *Oncology* 43 (Suppl. 1), 8 (1986).
87. Azuma J. I., Kim N. H., Heux L., Vuong R., Chanzy H.: *Cellulose* 7, 3 (2000).
88. Horbelt N., Fratzl P., Harrington M. J.: *PNAS Nexus* 1, pgac026 (2022).

T. Lener and K. Nesměrák (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Legendary White-berry Mistletoe (*Viscum album* L.): History of Its Use in Medicine and the Substances It Contains**

The common white-berry mistletoe (*Viscum album* L.) has fascinated mankind with its uniqueness since time immemorial and is associated with rich symbolism and numerous legends. Despite its toxic content, it has been used for medicinal purposes for centuries and remains a research subject to this day. The introductory section of this article summarizes the biology of white-berry mistletoe, being followed by an overview of its occurrence in history: from archaeological findings to its mention in ancient authors (Hippocrates, Aristotle, Theophrastus, Strabo, Virgil, Pliny the Elder), as well as to its role in Celtic mythology, Norse sagas, and Christian tradition. The next section analyzes the medicinal uses of white-berry mistletoe from antiquity through the Middle Ages and Renaissance (including the views of Paracelsus and Bohemian medical texts), the Baroque period, to modern times. The final part of the article focuses on the groups of white-berry mistletoe constituents – phenolic compounds, lectins, viscotoxins, alkaloids, terpenes, and carbohydrates – highlighting their medical relevance and toxicity. White-berry mistletoe is presented as a remarkable medicinal plant with a rich history, while attracting permanent scientific interest due to its content of bioactive compounds with potential immunomodulatory and cytotoxic effects.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: history, medicinal plants, plant substances, *Viscum album* L., white-berry mistletoe



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

LÉČIVÁ SÍLA DARŮ MÁGŮ

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6,
Česká republika
drasarp@vscht.cz

Došlo 15.6.25, přijato 21.8.25.

Článek přináší popis dvou ze tří darů, které přinesli tajemní mágové Ježíškovi do Betléma k oslavě jeho narození, kadidla a myrhy.

Klíčová slova: kadidlovník, *Boswellia*, kadidlo, olibanum, františky, pryskyřice, myrhovník, *Commiphora*, myrha, hirabol, bisabol, opoponax, historie, medicínální použití, léčitelství

Mt 2,11: I všedše do domu, našli děťátko s Marií matkou jeho, a padše, klaněli se jemu; a otevřevše poklady své, obětovali jemu dary, zlato a kadidlo a mirru.

Bible kralická nám vypráví, že Ježíšek dostal od mágů z Východu zlato, kadidlo a myrhu. Všechny tři komodity měly pro znalce v té době léčivou a magickou moc, tak jak o tom píše i starozákonní druhá kniha Mojžišova, Exodus, v kapitole 30. Podívejme se nejprve na to, jak to bylo a je s kadidlem.

Podle řecké mytologie byla rostlina dávající kadidlo kdysi smrtelnou ženou, babylonskou princeznou, matkou Argonauta Thersanona, jménem Leukotóa (Leucothoe). Bůh Slunce Hélios se do ní zamiloval a opustil svou předchozí milenkou Klýtii (Clytie). V hořkosti Klýtie pomlouvala Leukotóina otce Orchama, který svou dceru zaživa pohřbil. Hélios dorazil příliš pozdě na to, aby ji zachránil, ale protože ji nechtěl nechat shnit pod zemí, proměnil ji v nový strom, aby mohla stále dýchat vzduch¹.

Kadidlo se získává jako usychající pryskyřice vytékající z ran na kůře kmene kadidlovníků (*Boswellia*) z čeledi březulovité (*Burseraceae*), jichž je asi 20 druhů, nejčastěji pak z kadidlovníku pravého (*Boswellia sacra* Flück, 1867,

též *B. carteri*, *Bursera sacra*) minimálního stáří 8–10 let. V našich krajích je kadidlo známo jak z kostelů, tak i z domácností. Doutnající františky (*Candelae fumales*, Räucherkerze), což jsou malé sušené kuželíky z dřevěného uhlí a pojidla, např. bramborové mouky, s příměsí kadidla a někdy i dusičnanu pro lepší doutnání², totiž o Vánocích navodí sváteční pohodu libou vůní. (obr. 1, obr. 2).

Kadidlo (latinsky *olibanum*, anglicky frankincense, německy Weihrauch, hebrejsky לבונה – levona, arabsky لُبَّان – lubbān, řecky λίβανον či λάδανον) se používalo od nepaměti³ ve starých civilizacích, mj. po aplikaci na žhavé uhlíky, ke generování vonného kouře, který byl velmi ceněn při náboženských obřadech, ale i v léčitelství⁴. Píše o tom např. Foltýnovský: *Kadidla (δουμαμα, λιβανον, olibanum, thus, incensum) užívali hojně pohané ve svém kultu; proto také sypati kadidlo před modlou bylo zname-*



Obr. 1. Kadidelnice a lod'ka³



Obr. 2. Kadidlovník⁴

ním odpadu od křesťanství (*thurificati*). Z té příčiny křesťané dlouho neužívali kadidla v liturgii, nýbrž jen po způsobu ostatních národů při pohřbech⁷. Teprve když pohanství zanikalo, a hlavně když v Orientě vznikala snaha křesťanskou liturgii učiniti slavnější, zavedlo se okouřování kadidlem i v liturgii křesťanské, aby se tak splnil předobraz ze Starého zákona. Nejstarší zmínka o kadidlu v liturgii křesťanské je u Pseudo-Dionysia z 5. stol. Zdá se, že na Západě se v římské církvi užívalo kadidla nejdříve pouze při evangeliu, později – od 12. stol., již všude – také při obětování a na začátku nejsvětější oběti. Rozsáhlý odborný popis publikovali v roce 1879 Hanbury a Flückiger⁸.

O léčitelském použití kadidla píše i Matthioli (obr. 3) a mimo jiné dodává: *Komuž se chce často na stolice / a pracuje tlačéním, nic nemůže učiniti / ten wezmi kadidlo samé / aneb spolu rovně světlé pryskyřice, řečené Spiegelhartz (kalafuna, pozn. red.) / vvrz na řežawé uhličko / a přijmi w zadek dým vycházející*⁹.

V tradiční čínské medicíně kadidlo (乳香 *rǔ xiāng*) spolu s myrhou (沒藥 *mò yào*) považují za látky s antibakteriálními vlastnostmi a účinky na krevní oběh¹⁰. Lze jej používat lokálně nebo orálně, také v chirurgii a interním lékařství tradiční čínské medicíny, k úlevě od bolesti, odstraňování krevních stází, podpoře krevního oběhu a léčbě hluchoty, mrtvice, uzamčené čelisti a abnormalit v ženské menstruaci.

Další zdroj léčebného využití kadidla lze nalézt v Indii. Kadidlo z *B. serrata* (*shallaki*, *salai guggulu*, *salai gugal* nebo *salai gugul*), je popsáno v ájurvédských učebnicích (*Charaka Samhita*, 1.–2. století n. l. a v *Astangahrdaya Samhita*, 7. století n. l.) k léčbě různých onemocnění¹¹. Současná ayurvédská literatura však kadidlo z *Boswellie* považuje za prostředek, kterým je porušována často dražší pryskyřice (*niryasa*, *myrha*) *guggul* nebo

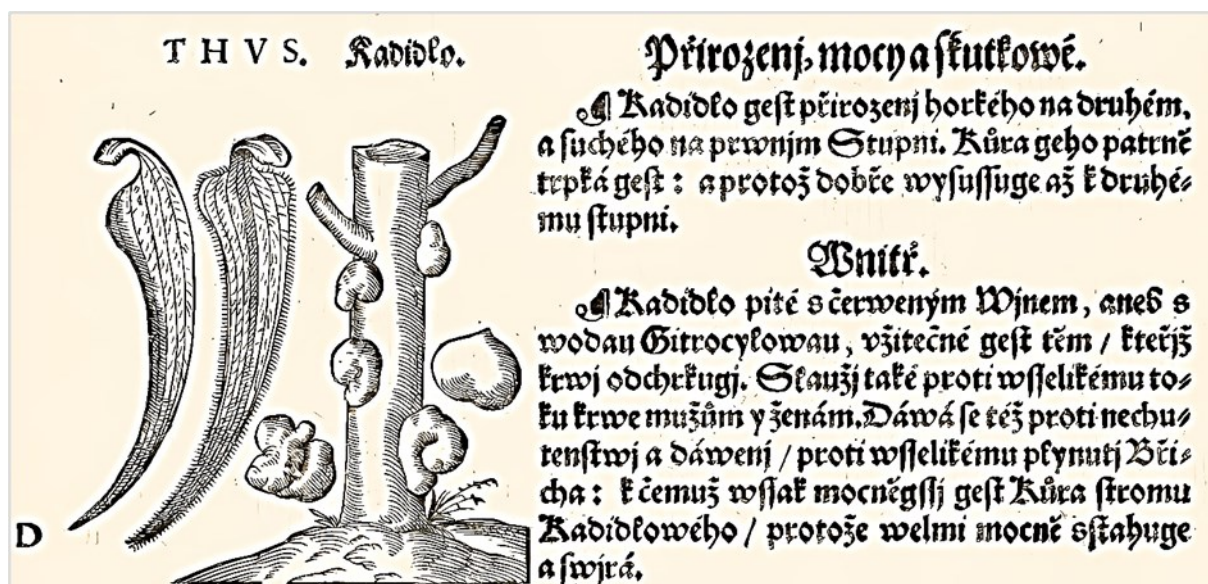
bdellium z myrhovníku *guggul* (*Indian bdellium tree; Commiphora wightii* (Arn.) Bhandari 1965)¹² též z čeledi březulovitě. Cena myrhy ve starém Římě představovala pětinasobek ceny kadidla a obě pryskyřice byly ve starověku ceněny často více než zlato. Mimo jiné i Avicenna používal kadidlo k omezení zánětů a infekcí močových cest¹³.

Nejstarší farmakologický popis poskytuje „Ebersův papyrus“ (staroegyptský lékařský text z doby kolem roku 1550 před našim letopočtem, nalezený v Luxoru, který egyptolog Moritz Fritz Ebers zakoupil kolem roku 1872 od arabského obchodníka), který uvádí kadidlo jako lék. Podobně ve staré arabské lékařské literatuře Abū al-Hasan ‘Alī b. Sahl Rabban al-Ṭabarī doporučoval kadidlo jako prostředek na ošetření ran¹⁴. Pro zajímavost lze uvést, že v judaistické svatyni v Tel Aradu byly nalezeny dva vápencové monolity, interpretované jako oltáře, na kterých bylo prokazatelně páleno kadidlo spolu s konopím¹⁵.

V Evropském lékopisu (Ph. Eur.) je uvedena lékopisná droga *Olibanum indicum*¹⁶ a v Americkém lékopisu (USP) jsou v části věnované doplňkům stravy články *Boswellia serrata* a *Boswellia serrata extract*¹⁷.

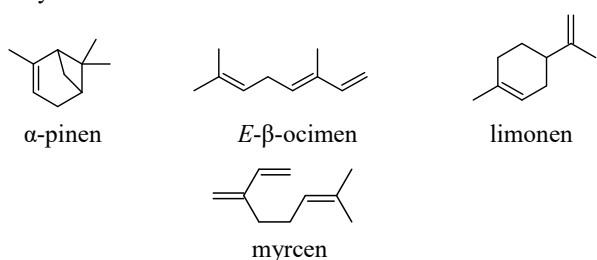
Olibanum (CAS RN 8016-36-2) se skládá převážně z látek rozpustných v alkoholu (54 až 63 procent), obsahuje také gumu (30 až 36 procent), nerozpustnou v alkoholu, která se podobá arabské gumě a skládá se ze dvou polysacharidů, převážně z D-galaktosy, D-arabiny a D-glukuronové kyseliny a menších podílů D-ramnosy a D-glukosy. Konečně olibanum obsahuje 4 až 7 procent těkavého oleje¹⁸. Spálením se získá asi 3 % popela. Je uvedeno v III. seznamu GRAS¹⁹ s číslem FEMA 2816.

Těkavé složky z oleopryskyřice z *B. carteri* z Adenu a *B. sacra* z Ománu mají poměrně podobné chemické složení. Analýza ukázala α-pinen²⁰, či E-β-ocimen a limonen²¹ jako hlavní sloučeniny a dále několik monoterpenů:

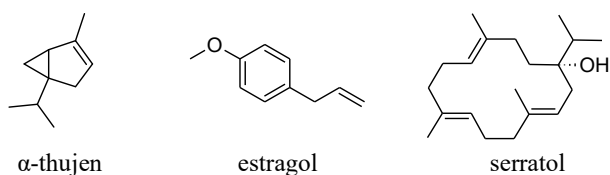


Obr. 3. Matthioli⁹: Kadidlo

kamfen, sabinen, β -pinen, *p*-cymen, α -kamfoleal, pino-karveol, 4-terpineol, myrtenal, myrtenol, verbenon, karveol, karvon, bornylacetát a kuminol. Kadidlo z *B. serrata* z Indie obsahuje v těkavých frakcích α -thujen jako hlavní sloučeninu, což jej odlišuje od afrického olibanu. Z dalších byl zmíněn zejména estragol (*p*-allylanisol, methylchavikol) ve vysokém podílu až 11 %, který EFSA považuje za látku, které je v potravinách třeba dávat zvláštní pozornost²² (nicméně ji cituje v této souvislosti jako jedinou z *B. serrata*), dále pak elemicin, *p*-cymen a β -bourbonen a mnoho dalších²¹. Výskyt methylchavikolu a elemicinu představuje taxonomický marker tohoto olibanu. Mezi diterpeny vidíme serratol, izomer cembrenolu²⁰, dále pak cembren A, incensol, incensol-oxid, incensol-acetát, a iso-serratol. Významně je zastoupen i myrcen²³.



R-(-)-Limonen a (+)- α -pinen vykazovaly slabou antimikrobiální aktivitu²⁴.

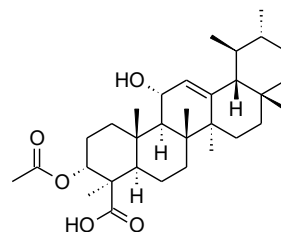


α -Thujen byl zkoumán podle SciFinder mj. na antibakteriální, antimikrobiální, fungicidní, protirakovinnou a protizánětlivou aktivitu, estragol je zmiňován jako látka fungicidní²⁵ a antibakteriální²⁶. Serratol je často zmiňován pro svoji aktivitu proti *Trypanosoma brucei* a *Plasmodium falciparum*²⁷.

Všechny monoterpeny a diterpeny mají většinou příjemnou vůni, leč pouze v roce 2016 publikoval Baldovini, že na základě GC-olfaktometrické analýzy minoritní (1*S*,2*R*)-(+)-*cis*- a (1*S*,2*S*)-(+)-*trans*-2-oktylcyklopropankarboxylové kyseliny (CAS RN 1926211-03-1 a 1926211-05-3) a několik jejich derivátů přispívají k perzistentní vůni kadidla a tím k „vůni starých chrámů“²⁸ a pojmenoval je olibanové kyseliny (olibanic)²⁹. Obsah těchto olibanových kyselin v těkavém oleji je ca 0,2 %. Terminologicky je třeba dát pozor na triterpen (3 α ,4 β ,11 α)-3-(acetyloxy)-11-hydroxyurs-12-en-23-ovou kyselinu, nazvanou triviálně též olibanová kyselina (olibanic)^{30,31} CAS RN 146019-25-2 (zrušená 857080-41-2 a 1224174-91-7), jejíž obsah v droze není deklarován, a která byla již dříve izolována z denivky plavé (*Hemerocallis fulva* (L.) L.) a nebyla tehdy pojmenována triviálním názvem³².

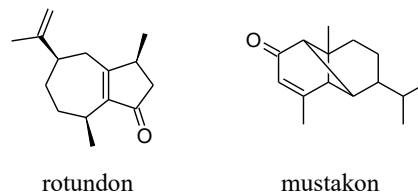


(1*S*,2*S*)-(+)- a (1*S*,2*R*)-(+)-*cis*-olibanová kyselina (olibanic)

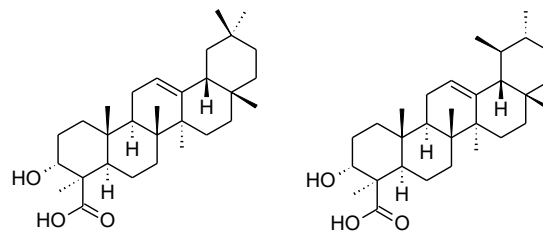


olibanová kyselina (olibanic)

Je velmi pravděpodobné, že k charakteristické komplexní vůni kadidla vystavenému zvýšené teplotě přispívají i další terpenové složky³³. Niebler však předpokládá, že důležitými složkami vůně jsou rotundon a mustakon³⁴. Lze dále předpokládat, že na vůni se podílejí i triterpeny, kterých je v olibanu největší podíl a které často sublimují za atmosférického tlaku již při teplotách kolem 300 °C (cit.^{35,36}) a začasné přitom příjemně voní.

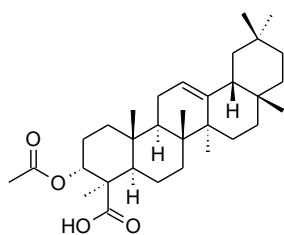
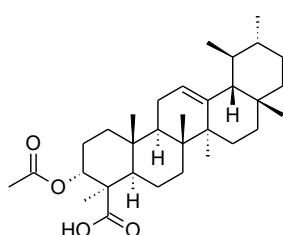
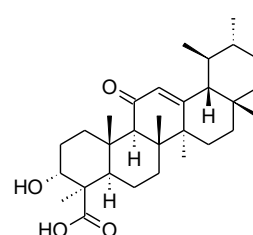


Přes olibanovou kyselinu (olibanic) se dostáváme k obsaženým triterpenům, což jsou zejména kyseliny boswellové (kterých může být v kadidle v nejbohatším případě až 65 %, což je prakticky většina v ethanolu rozpustného podílu olibanu, kterého bývá ca 60 % (cit.³⁷), lupeolová, roburová, tirukallová a α - a β -amyryny. Z boswellových kyselin jde zejména o α -boswellovou, β -boswellovou, 3-*O*-acetyl- α -boswellovou, 3-*O*-acetyl- β -boswellovou, 11-keto- β -boswellovou kyselinu (2–5 %) a 3-*O*-acetyl-11-keto-boswellovou kyselinu (2–5 %). Poslední dvě byly definovány jako fytochemický marker³⁸.

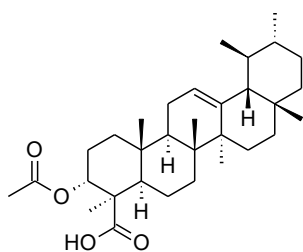
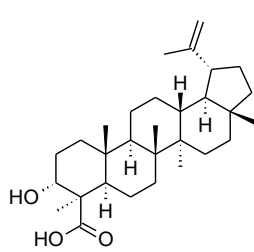


α -boswellová kyselina

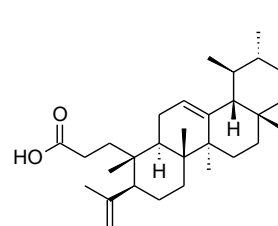
β -boswellová kyselina

3-*O*-acetyl- α -boswellic kyselina3-*O*-acetyl- β -boswellic kyselina

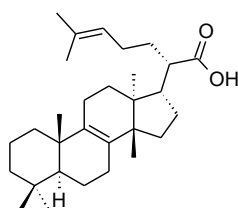
11-keto-boswellic kyselina

3-*O*-acetyl-11-keto-boswellic kyselina

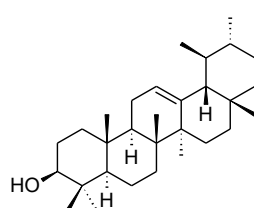
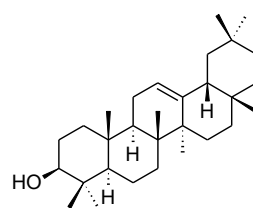
lupeolová kyselina



roburová kyselina



tirukallová kyselina

 α -amyrin β -amyrin

Studie *in vitro* i zvířecí modely ukazují, že kyseliny boswellicé inhibují syntézu prozánětlivého enzymu 5-lipoxygenasy (5LO), včetně 5-hydroxyeikosatetraenové kyseliny (5HETE) a leukotrienu B₄ (LTB-4), což způsobuje bronchokonstrikci, chemotaxi a zvýšenou vaskulární permeabilitu³⁹. Bylo publikováno jejich použití jako možné ochranné látky proti dlouhodobým diabetickým komplikacím⁴⁰. SciFinder uvádí dále aktivitu protizánětlivou, protirakovinnou, antibakteriální. Na krysách bylo prokázáno, že α -boswellic kyselina chrání před ethanolom vyvolaným poškozením žaludku⁴¹ a jater^{42,43}. Kyseliny boswellicé vykazují *in vitro* účinnost proti leukémii, rakovině prostaty, rakovině prsu a rakovině tlustého střeva⁴⁴. Bylo prokázáno, že indukují apoptózu, inhibují sekreci matrixových metaloproteinů a inhibují migraci v buněčných liniích metastatického melanomu u myši⁴⁵. Je zajímavé, že se boswellic kyseliny uplatní i jako doplněk akupunktury při léčbě astmatu, sinusitidy a bronchitidy, stejně jako problémů s kašlem a sípáním, ke snížení otoků a na zklidnění srdce; na úzkost a depresi⁴⁶.

Kyselina roburová je neselektivním inhibitorem COX (cit.⁴⁷). Oba, α - i β -amyrin, vykazují dlouhodobé antinociceptivní a protizánětlivé vlastnosti ve dvou modelech perzistentní nocicepce prostřednictvím aktivace kanabinoidních receptorů CB1 a CB2 a inhibicí produkce cytokinů a exprese NF- κ B, CREB a cyklooxygenasy 2 (cit.⁴⁸). Podobně působí i triterpenové kyseliny z olibana⁴⁹.

Tím se dostáváme k zajímavému faktu, že celá řada látek obsažených v kadidle ovlivňuje kanabinoidní receptory^{48,50}. Lze tím vysvětlit oblibu vonných olejů⁵¹ a kadidla při mystických a náboženských obřadech, protože jeho kouř účinkoval nejen na aktéry samotné, ale i na obecenstvo, a tím obřady nejen ztajemňoval, ale do jisté míry zpříjemňoval i popularizoval.

Závěrem bychom mohli podle indických autorů⁵² shrnout: Kadidlo, pryskyřice druhu *Boswellia*, obsahuje mnoho aktivních látek, kromě toho, že je v různých kulturách spojováno s náboženskými a společenskými událostmi, se používá v různých produktech, jako jsou esenciální oleje, kosmetika, parfémy a barviva. *B. sacra* a *B. carterii*

mají dlouhou historii tradičního využití a v poslední době i v moderní medicíně. Byly používány k léčbě zánětlivých onemocnění střev, osteoartrózy a revmatoidní artritidy^{53,54}. Mezi tato využití patří výzkum, soustřeďující se na účinky cytotoxické, protizánětlivé, antimikrobiální, antidiabetické, imunomodulační a antikoagulační. Byly popsány testy na účinky proti žaludečním, jaterním, neurologickým a kožním onemocněním *in vitro* a *in vivo*. Klinické studie prokázaly dobré účinky proti karcinomům a gliomům, stejně jako proti nádorům močového měchýře a mozku. Nicméně, k potvrzení jejich potenciálního využití v oblasti medicíny jsou zapotřebí další studie. *B. sacra* tvoří hlavní složku mnoha patentů a byla obsažena v mnoha recepturách, včetně pudrů, pleťových mlék a masť. Možná proto ji Mezinárodní unie ochrany přírody považuje za ohroženou a je zařazena na Červený seznam. Je proto důležité, aby bylo vyvinuto úsilí v aktivitách proti jejímu zničení a zároveň, aby byly lépe zkoumány etnofarmakologické a botanické aspekty těchto půvabných drog.

Podívejme se nyní na druhý z Ježíškových darů – myrhu. Myrha (neboli *Gumiresina myrha*, niryasa, bdellium, moyao, v angličtině myrrha, gum myrrh, common myrrh; řecky σμύρνα, tibetsky guggul, gu gul rasa, gu gu le, ge ge, ཀུ་གུ་ལེ་, ཀུ་གུ་ལེ་ལ་, mongolsky yun xiang) je klejoprskyřice z mízy stromu myrhovníku z arabského poloostrova, východní Afriky a Indie, ale i severu Jižní Ameriky. Lépe řečeno se jedná o mnoho set různých druhů stromů rodu *Commiphora* a *Balsamodendron*, zejména *Commiphora myrha* (Nees) Engl., z čeledi březulovité (*Burseraceae*), *Commiphora erythraea* (někdy nazývaná východní indická myrha), *Commiphora opobalsamum* a *Balsamodendron kua*, která se vyznačuje silnou, kouřovou a balzámovou vůní.

Myrhovník pravý produkuje tzv. „hořkou myrhu“ (hirabol, heerabol-myrh, molmol myrrha), kdežto z podobného druhu myrhovníku Guidottova „habaghadý“ (*Commiphora guidottii*) či *Commiphora erythraea*

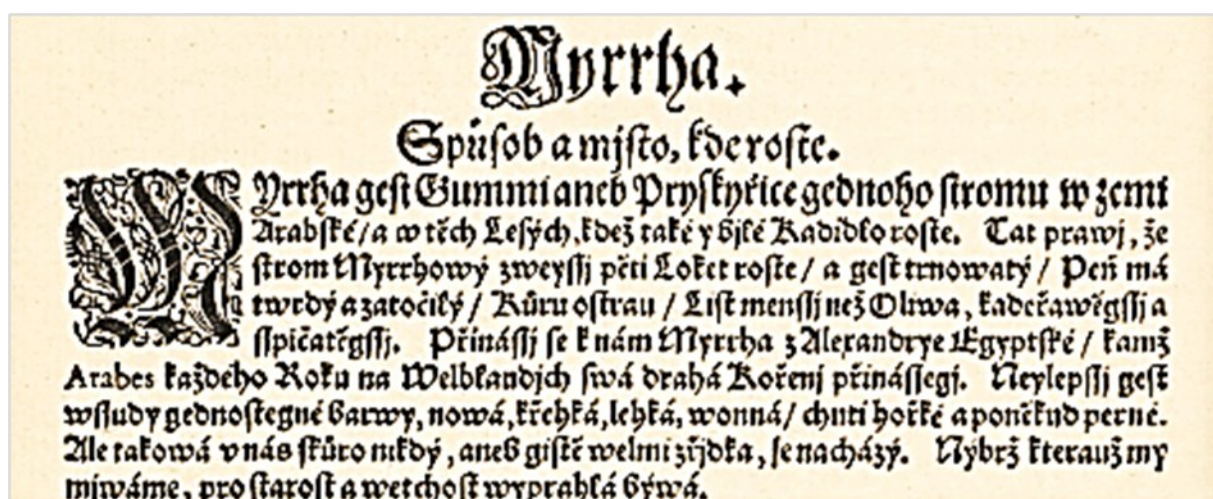
Obr. 5. Myrhovník⁴

glabrescens Engler. se získává méně ceněná, tzv. „sladká myrha“ (bisabol či opoponax)⁵⁵.

Opět i zde vidíme podle řecké mytologie starobylou historii⁵⁶. Myrha byla v řecké mytologii dcerou kyperského krále Kinyra (Κινύρας) a jeho manželky Kenchréidy. Myrha se zamilovala do svého otce, kterého svedla k hříšné lásce, a opivši ho, dosáhla ukojení svých vášní. Tím si rozhněvala bohyni Afroditu. Když otec dceřin skutek odhalil, chtěl ji zabít, jí se však podařilo utéci do ciziny, kde se sama proklela. Bohové ji proměnili v myrhový strom (latinsky *Commiphora*). Dodnes z něho kapou její slzy – myrha. Ze stromu, z hříšného spojení Myrhy a Kinyry, se po čase narodil její syn a bratr, kterého se ujaly a vychovaly víly. Dostal jméno Adónis.

I zde nám o myrze rozsáhle píše Matthioli⁹ (obr. 4).

K tomu Matthioli dodává, např: *Myrrha s zenským*

Obr. 4. Matthioli⁹: Myrha

mlékem rozetřená, a do oteklych fflusowatých očí zapaustena, welmi jim dobře činj. Nebo lehčj / k sezranj pomáh / wysussuje, posyluje / w očjch nesstowice uzdrawuje / bělmo shání / mrákotu rozhání⁹.

Nejstarší farmakologický popis poskytuje opět známý „Ebersův papyrus“. Ve starém Egyptě se používala jako součást balzamovacích přípravků či materiál k potírání ostatků, jako léčivá droga, obětní dar, parfém a vykuřovadlo při náboženských rituálech. Jak již bylo řečeno, myrha (沒藥 mò yào) byla popisována i ve staré Číně již za dynastie Tang, např. k ošetření ran, zmírnění bolestivých otoků a k léčbě menstruačních bolestí způsobených stagnací krve a v mnoha dalších starobylých textech. Staří Židé měli za to, že pryskyřici přinesla královna ze Saby Šalomounovi při své návštěvě. Král Šalomoun poté nechal myrhovník pěstovat. Ayurvéda popisuje schopnost myrhy léčit různá onemocnění⁵⁷, včetně obezity, osteoartrózy, artritidy, zácpy, onemocnění jater, zánětů, anémie, cukrovky, mj.

V řadě aspektů je myrha podobná kadidlu. Pokud se týče složení, nalézáme zde těkavé oleje (2–8 %), v alkoholu rozpustné pryskyřice (23–40 %), ve vodě částečně rozpustný podíl podobný arabské gumě (40–60 %) a frakci nazývanou hořčiny (10–25 %).

Obecně je dnes myrha používána v kosmetice, jako součást přípravků na ošetření pleti⁵⁸, dezinfekci úst⁵⁹, vaginy⁶⁰ a celé řady dalších medicínálních přípravků. Byla zkoumána i aktivita antihelmintická a antiprotozoální⁶¹. Hexanový extrakt myrhy *Commiphora* potlačil progresi rakoviny prsu indukci zástavy fáze G0/G1 a apoptotické buněčné smrti inhibicí signální dráhy cyklinu D1/CDK4-Rb (cit.⁶²). Experimenty *in vitro* prokázaly, že myrha obecná má protizánětlivé vlastnosti inhibicí hladin interferonu- γ , interleukinu-12 (IL-12), TNF- α , IL-1 β a oxidu dusnatého; kteréžto vlastnosti přispívají k podpoře hojení ran⁶³. Sumárně jsou uváděny účinky protizánětlivé, antioxidační, protirakovinné, antimikrobiální, hypolipidemické, neuroprotektivní, hepatoprotektivní, analgetické a další⁶⁷.

Dnešní čínský lékopis⁶⁴ uvádí, že myrha má účinek zmírňovat bolest, usnadňovat pohyb tekutin v těle, snižo-

vat otoky a generovat svaly. Používá se k léčbě bolesti kloubů a srdce, gynekologických benigních nádorů, dysmenorey, poporodní stáze, bolestí břicha, revmatických kloubů, traumatu, abscesu, otoků a ran. Úřad pro kontrolu potravin a léčiv v USA (FDA) schválil použití myrhy v potravinách (21 Code of Federal Registration-CFR172.510), podobně Rada Evropy zařadila myrhu na seznam rostlin a jejich částí, které jsou přijatelné pro použití v potravinách⁶⁵.

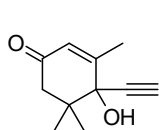
Myrha se používá i v technice, například jako součást antimikrobiálních nátěrů dřeva⁶⁶, laků⁶⁷, fungicidů⁶⁸, či prostředků na hubení larev moskytů⁶⁹. Používá se i jako součást nápojů, žvýkaček, bonbónů, pudinků a v konzervárenství, díky řadě atraktivních vlastností funguje jako dobré adhezni zahušťovadlo, emulgátor, fixační činidlo, ochucovadlo a perfektní stabilizační činidlo⁷⁰.

Známe komplexní dílo Codex-Agrol uvádí, že myrha byla součástí léčivé masti na prsní bradavky a kožní choroby, kapslí proti hlístům a na bronchitidu a tuberkulózu².

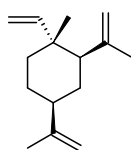
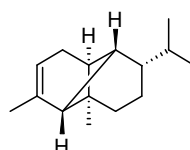
Chemické složení poprvé zkoumal Lewinsohn⁷¹, který destilací získal řadu terpenů. Moderní studie nalézají ve vonném oleji opět, jako v kadidle, desítky látek, kde nejvíce zastoupené jsou např. 4-ethynyl-4-hydroxy-3,5,5-trimethyl-2-cyklohexen-1-on, β -elemen, kopaen, dehydroaromadendren, γ -elemen, dekahydro-1-methyl-4-methylen-7-(1-methylethenyl)azulen, elemol, germacren B a D, ent-spathulenol, β -kadinen, δ -elemen, β -bourbonen, 10-(1-methylethenyl)-(E,E)-3,7-cyklodekadien-1-on, isolinalyl-acetát a 60 dalších minoritních sloučenin⁷². Podle některých pramenů je významně zastoupen i kurzeren²³.

Z uvedených složek mj. β -elemen omezuje růst *Mycobacteria tuberculosis*⁷³ a γ -elemen *Leishmania amazonensis*⁷⁴, kdežto kopaen je SciFinderem uváděn jako látka s účinností antibakteriální, antimikrobiální, fungicidní, protizánětlivou, analgetickou a protirakovinnou.

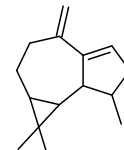
Z látek zodpovědných za typickou vůni myrhy byly označeny furanoeudesma-1,3-dien, lindestren a dihydro-pyrokurzerenon⁵⁵.



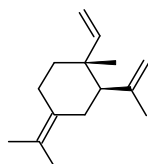
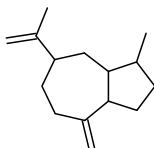
4-ethynyl-4-hydroxy-3,5,5-trimethyl-2-cyklohexen-1-on

 β -elemen

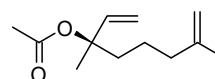
kopaen



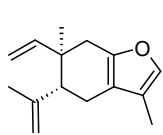
dehydroaromadendren

 γ -elemen

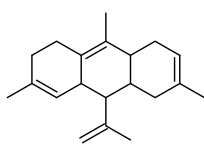
dekahydro-1-methyl-4-methylen-7-(1-methylethenyl)azulen



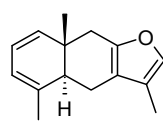
isolinalyl-acetát



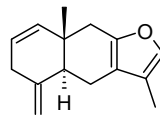
kurzeren



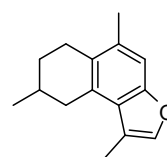
cembren A



furanoeudesma-1,3-dien



lindestren



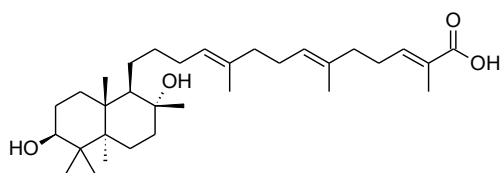
dihydropyrokurzerenon

Uvedený furanoeudesma-1,3-dien se vyznačuje protizánětlivou aktivitou⁷⁵.

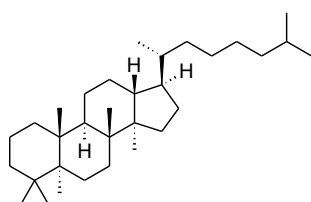
Lze zmínit i řadu monoterpenů jako eugenol, α -pinen, geraniol. Seskviterpeny jsme jmenovali již výše. Nalezneme zde mnoho typů jako např. terpeny germakrenové, endesmanové, guaianové, kadinenové a elemenové. Diterpeny jsou zastoupeny cembrenoidy, např. cembrenem A a typy abietanové, nor-abietanové, cembrenoidové, podocarpénové, pimarénové.

Triterpeny jsou představeny např. myrrhanolem B. Dále zde nalezneme typy oleananové, ursanové, lanostanové, cykloaltanové, atd., dammaran patří k nejběžnějším. Myrhanol inhibuje produkci oxidu dusného⁷⁶.

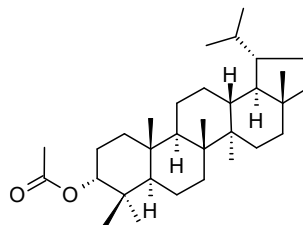
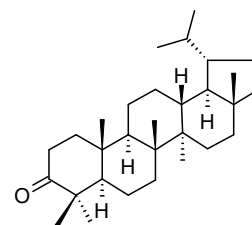
Z triterpenů byly izolovány dále lupan-3 α -ol-acetát, lupan-3-on, 18 α -urs-12-en-3 α -ol, 18 α -urs-12-en-3-on a další⁷⁷.



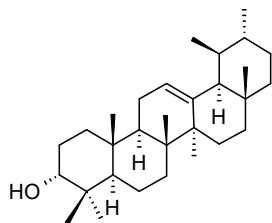
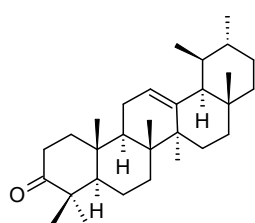
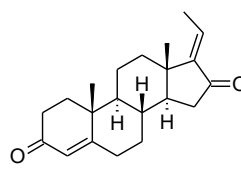
myrrhanol B



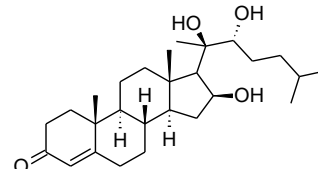
dammaran

lupan-3 α -ol-acetát

lupan-3-on

18 α -urs-12-en-3 α -ol18 α -urs-12-en-3-on

guggulsteron



guggulsterol I

Izolována byla celá řada steroidních sloučenin jako např. guggulsteroidy, z nichž některé nemají daleko ke strukturám ekdysteroidů⁶⁷.

Guggulsteron je bioaktivní steroid izolovaný převážně z rostliny *Commiphora mukul*. Dva izomery, Z- a E-guggulsteron, prokázaly širokou škálu farmakologických účinků *in vitro* i *in vivo*, včetně antiproliferačních, antioxidantních, protizánětlivých a antibakteriálních účinků, navíc může zvýšit cytotoxický efekt doxorubicinu⁷⁸.

Myrha obsahuje i řadu lignanů, aminokyselin cukrů a flavonoidů.

Mystické působení kouře z kadidla a myrhy při náboženských shromážděních byl mj. i ve své podstatě i serendipitní objev, který snižoval možnost šíření nakažlivých chorob při obřadech, při kterých se účastnilo množství lidí²³. *In vitro* antimikrobiální testy prokázaly vysokou citlivost bakterií a hub na kapalnou a plynou fází etherických olejů a kouř z kadidel, což bylo známo již v 11. století př. n. l. Experimentální aplikace par a kouře z kadidel *in situ* (Kostel Nanebevstoupení Páně ze 17. století n. l., v obci Velikí Krčimír v Srbsku) vedla ke snížení počtu životaschopných mikrobů přenášených vzduchem až o 45

až 80 % u hub a 67–91 % u bakterií, což potvrzují i jiné zdroje⁷⁹. Zdá se, že šamani a báby kořenářky věděly „svoje“, když u nemocného kouřili kaditelnici.

Přírodní produkty (specializované metabolity) získané z rostlin používaných v tradiční medicíně po celém světě, produkty jako esenciální oleje (EO), jsou často známé svými biologickými schopnostmi a často i bez ohledu na nedostatek vědeckých důkazů mohou být na základě dlouhodobé zkušenosti považovány za víceméně neškodné pro člověka. Protože kadidlo i myrha nemusí mít na trhu kvalitu požadovanou u léčivých prostředků, je třeba původu a kvalitě věnovat zvláštní pozornost.

Je však nutno upozornit, že tento článek je pouhým nahlédnutím ve věci obou božských darů, neboť literárních zdrojů, věnujících se tomuto tématu je „neúrekom“. Článek je součástí série příspěvků popisujících různé chemické aspekty problematiky přírodních látek, jako např.^{80–82}.

LITERATURA

- Hard R.: *The Routledge Handbook of Greek Mythology: Based on H.J. Rose's "Handbook of Greek Mythology"*. Routledge, Taylor & Francis Group, London a New York 2004.
- Vydržel A.: *Codex-Agrol*. Codex-Agrol-Vydržel, Olomouc 1940.
- Podlaha A.: *Katolická liturgika, učebná kniha pro střední školy*. Státní nakladatelství, Praha 1930.
- Köhler F. E.: *Köhler's Medizinal-Pflanzen*, F. Eugen Köhler, Gera 1887.
- Killion U., v knize: *A Modern Chinese Journey to the West: Economic Globalization and Dualism*, str. 66. Nova Science Publishers, New York 2006.
- Otto J.: *Ottův slovník naučný, illustrovaná encyklopaedie obecných vědomostí*, díl 4., str. 452. J. Otto, Praha 1891.
- Tertullianus Q. S. F.: *Opera omnia (Apologeticum)*, v knize: *Patrologiae latinae*, (Tomus I., Migne J. P., ed.), str. 558, pozn. 42. Apud Garnier Fratres, Paříž 1787.
- Fluckiger F. A., Hanbury D., v knize: *Pharmacographia, A History of the Principal Drugs of Vegetable Origin met with in Great Britain and British India*, 2. vydání, str. 133. Macmillan & Co., London 1878.
- Mattioli P. A.: *Herbář, aneb, Bylinář doktora Petra Ondřege Mathiola, za přispění Adama Hubera z Risenpachu a Daniela Adama z Veleslavína*. Vydal B. Kočí, Praha 1924.
- Hamidpour R., Hamidpour S., Hamidpour M., Shahlari M.: *J. Tradit. Complementary Med.* 3, 221 (2013).
- Ammon H. P. T.: *Planta Med.* 72, 1100 (2006).
- Singh D. C., Dhyani S., Kaur G.: *Int. J. Ayur. Pharma Res.* 3, 1 (2015).
- Michie C. A., Cooper E.: *J. R. Soc. Med.* 84, 602 (1991).
- 'Alī b. Rabban-al-Tabarī: *Firdausu'l-Hikmat or Paradise of Wisdom* (Siddiqi M. Z., ed.). E.G.W. Gibb Memorial Trust a Kunstdruckerei Sonne, Berlín 1928.
- Arie E., Rosen B., Namdar D.: *Tel Aviv J. Inst. Archaeol. Tel Aviv Univ.* 47, 5 (2020).
- Council of Europe: *European Pharmacopoeia*, 11. vyd. Council of Europe, Strasbourg 2023.
- The United States Pharmacopeial Convention: *The United States Pharmacopeia - National Formulary*; USP Convention, Rockville 2023.
- Kress H.: *Henriette's Herbal Homepage*, <https://www.henriettes-herb.com/eclectic/kings/boswellia.html>, staženo 30. 4. 2025.
- Hall R. L., Oser B. L.: *Recent progress in the consideration of flavor ingredients under the Food Additives Amendment. 3. GRAS Substances*. *Food Technology* 19 (2, Part 2), 151 (1965).
- Hamm S., Bleton J., Connan J., Tchaplá A.: *Phytochemistry* 66, 1499 (2005).
- Al-Harrasi A., Al-Saidi S.: *Molecules* 13, 2181 (2008).
- EFSA: *EFSA J.* 10, 2663 (2012).
- Grbić M. L. a 10 spoluautorů: *J. Ethnopharm.* 219, 1 (2018).
- Guimaraes A. C., Meireles L. M., Lemos M. F., Guimaraes M. C. C., Endringer D. C., Fronza M., Scherer R.: *Molecules* 24, 2471 (2019).
- Kubo I., Muroi H., Himejima M.: *J. Nat. Prod.* 56, 220 (1993).
- Issa D., Najjar A., Greige-Gerges H., Nehme H.: *J. Food Sci.* 84, 138 (2019).
- Schmidt T. J. a 21 spoluautorů: *Curr. Med. Chem.* 19, 2128 (2012).
- Paul M.: *Chemotaxonomic Investigations on Resins of the Frankincense Species Boswellia papyrifera, Boswellia serrata and Boswellia sacra, respectively, Boswellia carterii*, *Dr.Rer.Nat Thesis*, Saarland University Saarbrücken, Saarland 2012.
- Cerutti-Delasalle C., Mehiri M., Cagliero C., Rubiolo P., Bicchi C., Meierhenrich U. J., Baldovin N.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 55, 13719 (2016).
- Jelicic M.-L., Amidzic K. D., Kovacic J., Verbanac D., Mornar A.: *Pharmaceuticals* 15, 965 (2022).
- Hussein A. A.: *Bulletin of the Faculty of Pharmacy (Cairo University)* 42, 327 (2004).
- Yan Z., Li Y.: *Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi* 13, 34 (2003).
- Niebler J., Buettner A.: *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 113, 690 (2015).
- Niebler J., Zhuravlova K., Minceva M., Buettner A.: *J. Nat. Prod.* 79, 1160 (2016).
- Lowitz J. T.: *Ueber eine neue, fast benzoeartige Substanz der Birken*, v knize: *Chemische Annalen für die Freunde der Naturlehrere, Arzneygelahrtheit, Haushaltungskunst und Manufacturen*, Erster Band

- (Grell D. L., ed.), str. 312. J. G. Müllerschen Buchhandlung, Helstadt a Leipzig 1788.
36. Guidoin M.-F., Yang J., Pichette A., Roy C.: *Thermochim. Acta* 398, 153 (2003).
37. Jeweldai V., Sokeng D. S., Koubé J., Kamtchouing P.: *Pharm. Biomed. Res.* 5, 32 (2019).
38. Bampidis V. a 21 spoluautorů: *EFSA J.* 20, e07158 (2022).
39. Siddiqui M. Z.: *Indian J. Pharm. Sci.* 73, 255 (2011).
40. Rao A. R., Veeresham C., Asres K.: *Phytotherapy Res.* 27, 753 (2013).
41. Zhang Y., Jia J., Ding Y., Ma Y., Shang P., Liu T., Hui G., Wang L., Wang M., Zhu Z., Li Y., Wen A.: *J. Pharm. Pharmacol.* 68, 514 (2016).
42. Salama R. M., Abbas S. S., Darwish S. F., Sallam A. A., Elmongy N. F., El Wakeel S. A.: *Arch. Pharm. Res.* 46, 323 (2023).
43. Mohammed I., Khaja Z. U., Mangamoori L. N.: *Int. J. Pharm. Appl.* 2, 89 (2011).
44. Khan M. A., Ali R., Parveen R., Najmi A. K., Ahmad S.: *J. Ethnopharmacol.* 191, 315 (2016).
45. Zhao W., Entschladen F., Liu H., Niggemann B., Fang Q., Zaenker K. S., Han R.: *Cancer Detect. Prev.* 27, 67 (2003).
46. Wakefield M. E.: *Constitutional Facial Acupuncture, kap. 8 - Special Treatments: Constitutional Psychospiritual Points*. Churchill, Livingstone 2014.
47. Maňková T.: *Rostlinné inhibitory cyklooxygenázy. Diplomová práce*. Veterinární univerzita, Brno 2013.
48. Simão da Silva K. A. B., Paszcuk A. F., Passos G. F., Silva E. S., Bento A. F., Meotti F. C., Calixto J. B.: *Pain* 152, 1872 (2011).
49. Hu D. a 14 spoluautorů: *Neural Plasticity* 2017, 3710821.
50. Bokelmann J. M., v knize: *Medicinal Herbs in Primary Care*, str. 351. Elsevier, Amsterdam 2021.
51. Johnson S. A., Rodriguez D., Allred K.: *J. Evidence-Based Complementary Altern. Med.* 2020, 8035301.
52. Khalifa S. A. M., Kotb S. M., El-Seedi S. H., Nahar L., Sarker S. D., Guo Z., Zou X., Musharraf S. G., Jassbi A. R., Du M., El-Seedi H. R.: *Ind. Crops Prod.* 203, 117106 (2023).
53. Banno N., Akihisa T., Yasukawa K., Tokuda H., Tabata K., Nakamura Y., Nishimura R., Kimura Y., Suzuki T.: *J. Ethnopharmacol.* 107, 249 (2006).
54. Poeckel D., Werz O.: *Curr. Med. Chem.* 13, 3359 (2006).
55. Hanuš L. O., Řezanka T., Dembitsky V. M., Moussaief A.: *Biomed. Papers* 149, 3 (2005).
56. Ovidius: *Básně Publia Ovidia Nasona, I. Proměny, zpěv VIII.-XV*, str. 96, přel. Červenka J., A. Storch syn, Praha 1895.
57. Sarup P., Bala S., Kamboj S.: *Scientifica* 2015, 138039.
58. Parsa R., Lyte P., Li W.-H. T.: WO2025074308 A1 (2025).
59. Geisler A., Feldmann N.: DE102023201455 A1 (2024).
60. Feng X.: CN118976089 A (2024).
61. Albasyouni S., Al-Quraishy S., Al-Hoshani N., Al-Otaibi T., Al-Shaebi E. M., Abdel-Gaber R.: *Helmintologia* 61, 1 (2024).
62. Huang H. a 12 spoluautorů: *Front. Pharmacol.* 15, 1425157 (2024).
63. Manjula N., Gayathri B., Vinaykumar K. S., Shanker-narayanan N. P., Vishwakarma R. A., Balakrishnan A.: *Int. Immunopharmacol.* 6, 122 (2006).
64. Chinese Pharmacopoeia Commission: *Pharmacopoeia of the People's Republic of China (ChP 2020)*. China Medical Science Press, Beijing 2020.
65. Council of Europe: *Partial Agreement in the Social and Public Health Field: Flavouring Substances and Natural Sources of Flavourings*, List N2, No. 150. Editeur Maisonneuve, Strasbourg 1981.
66. Vellore Institute of Technology, IN202541018362 A (2025).
67. Yang Y., Sun X., Peng C., Wei J., Yang X.: *Pharmaceuticals* 17, 1524 (2024).
68. Alabdallal A. H.: *Ann. Agric. Environ. Med.* 31, 340 (2024).
69. Spinozzi E. a 15 spoluautorů: *Nat. Prod. Bioprospect.* 15, 12 (2025).
70. Food and Agriculture Organization: *Flavours and Fragrances of Plant Origin, Non-Wood Forest Products 1*. Food and Agriculture Organization, Rome 1995.
71. Lewinsohn K.: *Arch. Pharm* 244, 412 (1906).
72. Chen Y., Zhou C., Ge Z., Liu Y., Liu Y., Feng W., Li S., Chen G., Wei T.: *Oncol. Lett.* 6, 1140 (2013).
73. Sieniawska E., Sawicki R., Swatko-Ossor M., Napierkowska A., Przekora A., Ginalska G., Augustynowicz-Kopec E.: *Molecules* 23, 176 (2018).
74. Nunes T. A. de L. a 12 spoluautorů: *Chem.-Biol. Interact.* 339, 109429 (2021).
75. Kuck K.: *Molecules* 26, 42 (2021).
76. Matsuda H.: *Bioorg. Med. Chem.* 12, 3037 (2004).
77. Mincione E., Iavarone C.: *Chim. Ind. (Milan)* 54, 424 (1972).
78. Xu H.-B., Fu J., Huang F., Yu J.: *Eur. J. Pharmacol.* 803, 57 (2017).
79. Puri M.: IN202121046529 A (2023).
80. Podskalská T., Říhová K., Kružík V., Škorpilová T., Smutná V., Potančoková J., Čížková H.: *Chem. Listy* 117, 23 (2023).
81. Jurášek M., Drašar P.: *Chem. Listy* 117, 278 (2023).
82. Šárka E., Caltová K., Smrčková P., Bleha R., Marek I., Fila V., Lhotka M.: *Chem. Listy* 117, 196 (2023).

M. Jurášek and P. Drašar (*Institute of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic*): **The Healing Power of the Gifts of the Magi**

The article describes two of the three gifts that the mysterious Magi brought to the baby Jesus in Bethlehem to celebrate his birth, frankincense and myrrh.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: Boswellia, frankincense, olibanum, Candelae fumales, resin, Commiphora, myrrh, hirabol, bisabol, opoponax, history, medicinal use, healing



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoli média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

CÍSAŘSKÝ KVĚT PODZIMNÍHO SLUNCE PLNÝ LÉČIVÉ SÍLY

MICHAL JURÁŠEK^a, LUBOMÍR OPLETAL^b a PAVEL DRAŠAR^a^a Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6,^b Katedra farmakognozie a farmaceutické botaniky, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Česká republika

michal.jurasek@vscht.cz, opletal@faf.cuni.cz, drasarp@vscht.cz

Došlo 12.8.25, přijato 21.8.25.

Chryzantéma je popisována jako potravina, mj. k získání lahodného nálevu, ale i jako velmi zajímavá a účinná léčivá bylina ať již z hlediska tradiční orientální medicíny, či soudobé „západní“ lékařské praxe a vědy.

Klíčová slova: chryzantéma, listopadka, dušička, čaj, léčivá bylina

Chryzantéma (obr. 1, cit.¹) je v Orientu tak populární, že její květ přijal japonský císař jako symbol svůj a své rodiny (菊の花; kiku no hana). Nejrozšířenější je použití květů k přípravě čaje, najmě v Orientu. Chryzantémový čaj (菊花茶; júhuā chá) je nálevový nápoj vyrobený z květů chryzantém (květ podzimního slunce, „čínská astara“, 菊花) druhu listopadka zahradní (někdy též dušička) *Chrysanthemum x morifolium* (Ramat.) Hemsl. nebo květů divoké listopadky indické *Chrysanthemum indicum* L., které jsou oblíbené ve východní a jihovýchodní Asii. K přípravě čaje se květy chryzantémy (obvykle sušené a nejlépe sklizené 9. dne 9. měsíce)² namočí do horké vody (obvykle 90 až 95 °C). Jakmile je konvice chryzantémového čaje dopita, tak se v čínské tradici horká voda přidá ke květinám znovu a tento proces se často několikrát opakuje. Výsledný nápoj je průhledný a má světlou až jasně žlutou barvu s květinovým aroma. Květy chryzantémy se také vaří v páře nebo ve vodě a konzumují v salátech. Listy jsou zvláště ceněny jako zeleninový pokrm. Chryzantéma patří do stejné čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*) jako

Obr. 1. Chryzantéma (cit.¹)

řada rostlin, na které bývají někteří lidé citliví. Pokud je někdo alergický na některou z rostlin této čeledi, je velmi pravděpodobné, že může být alergický i na chryzantémy; pokud se objeví dýchací potíže, astma, senná rýma nebo kožní vyrážka, je nutno s používáním chryzantém přestat.

Chryzantéma se v Asii konzumuje po tisíce let³, hraje zásadní roli v tradiční

čínské medicíně a většinou se používá jako lahodný a výživný nápoj. Předpokládá se, že byla poprvé pěstována v Číně v 15. století př. n. l., kde byla uctívána básníky a umělci. Kolem roku 500 př. n. l. Konfucius, velký čínský filozof, učinil první oficiální zmínku o chryzantémě ve svém díle⁴ Li-t'i (禮記). Chryzantémy byly symbolem vznešenosti a integrity. Bylinný čaj byl poprvé zdokumentován a popularizován za dynastie Song (960–1279 n. l.) a po staletí se používal k léčbě dýchacích potíží, nepravidelnosti krevního tlaku a k uklidnění nervů. Rostlina byla přenesena do Japonska v 5. století našeho letopočtu, kde byla přijata jako císařova oficiální pečeť a symbol císařského trůnu. V Evropě, zejména v Holandsku, je známa od poloviny 17. století, ale k jejímu všeobecnému rozšíření došlo až v 19. století. Chryzantéma byla poprvé oceněna jako léčivá rostlina v Číně a je zde zařazena do lékopisu⁵.

Chryzantéma je zařazena v nejstarším čínském lékařském spisu Shen Nong Ben Cao Jing⁶ z počátku novověku, v kategorii nadřazených léků, a je součástí produktů souvisejících s hledáním nesmrtnosti. „Při dlouhodobém používání zvedá zábranu krve a vitální energii (čchi), zmírňuje tělo, zpomaluje stárnutí a prodlužuje život,“ říká klasik. Smyslem „odlehčení těla“ bylo dosažení éterického stavu nesmrtelných schopných „létat v oblacích“. Od dynastií Jin a Tang (kolem 5. století n. l.) se chryzantéma začala oceňovat jako okrasná rostlina a nadále se používala z dietních důvodů.

První monografie o chryzantémách autora Liu Meng⁷ byla vydána v roce 1104 n. l. Jeho „Pojednání o chryzantémách“ (菊譜) klasifikuje chryzantémy podle jejich barev: normální jsou žluté, pak následují bílé, červené fialové, a nakonec uvádí celkem 35 pěstovaných odrůd, které bylo možné pozorovat v zahradách poblíž buddhistických svatyní v jeskyních Longmen u města Luoyang v čínské

provincii Henan. V 16. století slavný lékař a bylinkář Li Š'-čen (Li Shizhen)⁸ uvádí sto kultivarů. Připisuje jim některé léčivé vlastnosti jako „eliminace tepla a toxinů“, „zlepšení zrakové ostrosti“, atd.

Prvním evropským autorem, který se zmiňuje o chryzantémě, je Jacobus Breynius (Jacob Breyn(e)) v roce 1679 (cit.⁹). Tento obchodník a botanik popisuje *Matricaria japonica maxima* (tento název není už v současnosti akceptován) jako velmi elegantní kvetoucí rostlinu, žlutou, růžovou nebo světle červenou a existující v několika odrůdách. Ještě před tím publikoval popis série „chryzantém“, ale termín *M. japonica* nepoužil¹⁰; nicméně Körber se domnívá, že popsal *C. indicum*¹¹ a uvádí, že se v Orientu používá jako výtečný prostředek proti opilství. Jeden z prvních ucelených botanických popisů chryzantémy pochází od abbé Thomase-Albina-Josepha d'Audibert de Ramatuelle. V roce 1792 tento botanik¹² popsal pěstovanou rostlinu s velkými purpurovými květy, kterou z Číny přivezl marseilleský mořeplavec Pierre Blancard, pod názvem „Heřmánek s velkými květy“, jako *Anthemis grandiflora*. Trvá na tom, aby ji odlišil od *Chrysanthemum indicum* L. s malými žlutými hlavičkami. V poznámce navrhuje nazývat ji také *Chrysanthemum morifolium*.

Analýza staré literatury, pokud se týče názvu „*Chrysanthemum*“, ale i „*Crysanthemum*“ apod., je obtížná, protože názvosloví nebylo jednoznačné a často je takový termín používán např. i pro kopretinu.

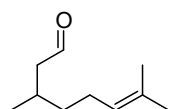
Moderní výzkumy potvrdily, že chryzantéma a divoká chryzantéma mají výrazné účinky při snižování krevního tlaku, krevních lipidů a glukosy, a mají také pozitivní účinek na játra a oči¹³, působí však i jako antioxidant, protizánětlivě, imunomodulačně¹⁴, neuroprotektivně, a má důležité terapeutické účinky a zdravotní přínosy při nachlazení, zánětech, kardiovaskulárních onemocněních a různých chronických onemocněních¹⁵.

Srovnání těkavých látek chryzantém ukázalo 114 chromatografických frakcí, v nichž bylo 60 sloučenin charakterizováno¹⁶. Jako nejběžnější vonné komponenty byly určeny mj. anxiolytický a analgetický citronelal¹⁷, hexylacetát, ethyl-2-methylpropanoát, 2-methyl-1-propanol, 2-methylbutanol, 1-hexanol, 3-methylbutylacetát. Dále pak řada monoterpenů a seskviterpenů, jako mírně lokálně antiseptický a anesteticky působící (avšak toxický) ($\pm$)-kafr, a do jisté míry toxický eukalyptol (1,8-cineol), bornylacetát a β -myrcen, γ -selinen, β -farnesen, β -elemen, β -karyofylen a β -kurkumen¹⁸.

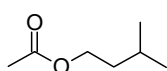
Chryzantémový nálev je bohatý na vitamin C (askorbovou kyselinu), který posiluje imunitní systém a může pomoci při léčbě nachlazení a chřipky, či odvrátit příznaky v raných stádiích onemocnění, jako jsou bolesti hlavy a stoupající teplota. Jeho antihistaminové vlastnosti, v synergii s flavonoidy a některými terpeny, činí tento čaj skvělým při prevenci alergií¹⁹.

Mezi hlavní biologicky aktivní látky je nutno počítat flavonoidy a jejich glykosidy. Patří sem zejména luteolin, apigenin, diosmetin, akacetin a jejich deriváty, následované flavonoly a flavanony včetně kvercetinu, dále rutin, hesperetin a jejich deriváty²⁰, zodpovědné zejména za antioxidační vlastnosti²¹. Velké množství linarinu v *C. indicum* může znamenat klíčové kritérium pro hodnocení kvality této léčivé drogy při ovlivnění poruch centrálního nervového systému; byla u ní údajně zjištěna zajímavá inhibice acetylcholinesterasy²². Řada preklinických studií ukazuje, že luteolin je významně účinný proti aterosklerose²³.

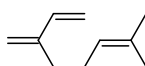
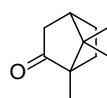
Fenolové kyseliny obvykle značí organické kyseliny obsahující v molekule fenolová jádra, ty jsou v droze hlavními účinnými látkami pro její antipyretické, analgetické a antioxidační účinky. Jde o kávovou kyselinu (i její izomery, respektive ethylestery), ferulovou, chlorogeno-



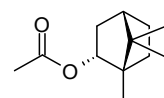
citronelal



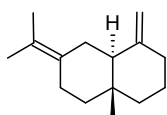
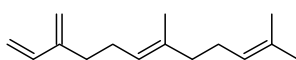
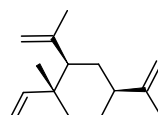
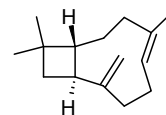
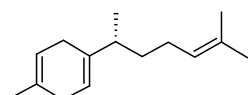
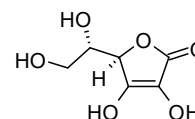
3-methylbutyl-acetát

 β -myrcen($\pm$)-kafr

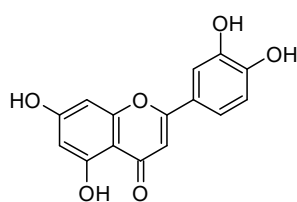
eukalyptol



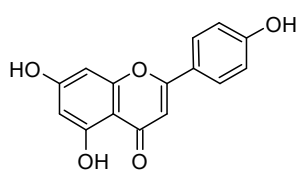
bornyl-acetát

 γ -selinen β -farnesen β -elemen β -karyofylen β -kurkumen

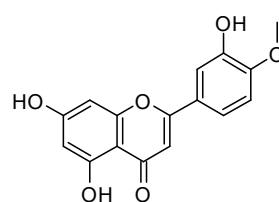
askorbová kyselina



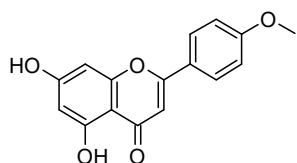
luteolin



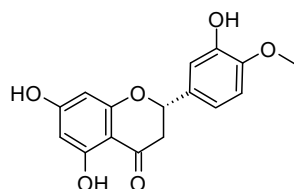
apigenin



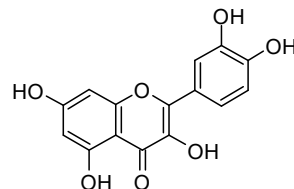
diosmetin



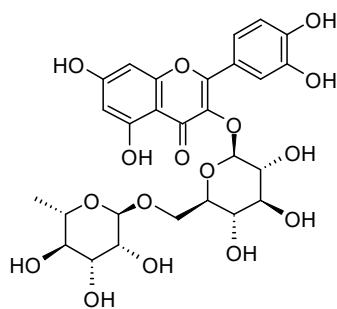
akacetin



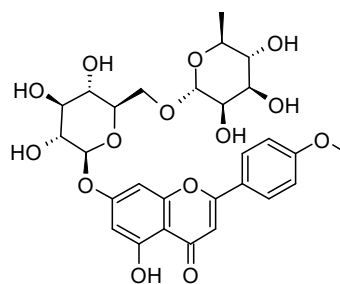
hesperetin



kvercetin



rutin



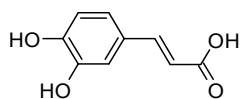
linarin

vou, 3,5-*O*-dikafeoylchinovou a 3,4,5-*O*-trikafeoylchinovou kyselinu. Chlorogenová kyselina a 3,5-*O*-dikafeoylchinová kyselina jsou reprezentativní fenolové kyseliny, které významně ovlivňují antioxidační kapacitu chryzantémy.

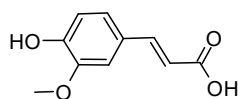
Podle čínského lékopisu⁵ by ve *Flos Chrysanthemi* (Júhuā, 菊花)²⁴ obsah kyseliny chlorogenové měl být vyšší než 0,2 g, 3,5-*O*-dikafeoylchinové kyseliny nad 0,7 g a luteolosidu (luteolin-7-*O*-glukosidu) nad 0,08 g (vše vztaženo na 100 g sušiny), aby bylo možno drogu považovat za léčivou. Český lékopis 2023 v doplňku 2024 uvádí v článku 11.3 popis *Chrysanthemi flos* / *Chrysanthemum*

flower (3162) / Chryzantémový květ. Český (ani evropský) lékopis Chryzantémový květ do roku 2024 neuvádí.

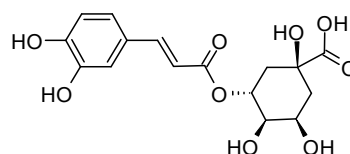
Kyselina chlorogenová je účinná při léčbě chorob jako diabetes mellitus typ 2, kardiovaskulárních onemocnění, neurodegenerativních onemocnění a rakoviny a díky své dobré antibakteriální a antioxidační aktivitě vynikajícím kandidátem na přírodní dietní přísady a funkční látky potravin²⁵. Nedávno izolované, velmi podobné chryzantemorimové kyseliny vykazovaly neuroprotektivní účinky proti neurotoxické indukované peroxidem vodíku v buňkách SH-SY5Y (cit.²⁶). Biologické aktivity jinsidajuolu A a jinsidajuolu B nejsou dosud známy.



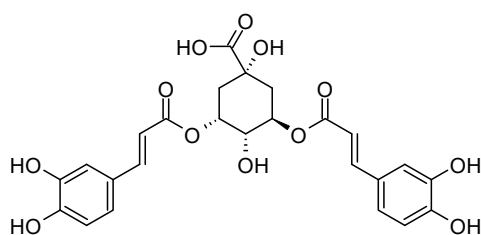
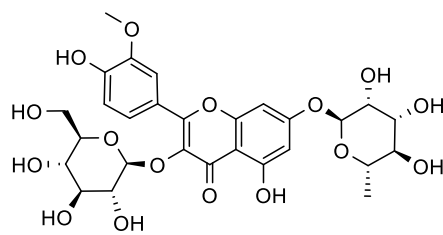
kávová kyselina



ferulová kyselina



chlorogenová kyselina

3,5-*O*-dikafeoylchinová kyselina

luteosid (brassicidin, boldosid)

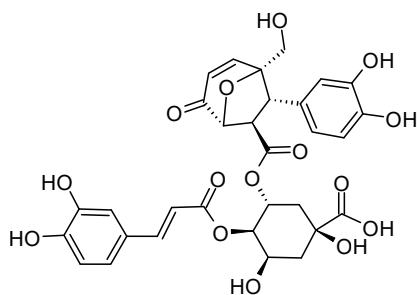
Pokud se týče triterpenů, byly popsány např. brein ((3 β ,16 β)-urs-12-en-3,16-diol), známý spíše jako součást léčivé pryskyřice elemi z kanárniku luzonského (*Canarium luzonicum*), zkoumaný mj. jako prostředek proti leishmaniase²⁷, dále pak významně antibakteriální a antimalarický pseudotaraxasterol (20-taraxasten-3 β -ol; ψ -taraxasterol), který je zkoumán i jako prostředek proti Alzheimerově chorobě²⁸ a tuberkulóze²⁹. Dále můžeme vidět kancerostatický³⁰ erythrodiol a heliantriol A₁, který byl testován, spolu s dalšími podobnými látkami jako inhi-

bitor aktivace časného antigenu viru Epstein-Barr³¹. Byl identifikován i β -sitosterol (stigmast-5-en-3 β -ol), testovaný mj. proti hypertrofii prostaty³² a na úpravu hodnoty cholesterolu v krvi³³.

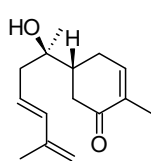
V droze se dále nacházejí i polysacharidy³⁴, karotenoidy³⁵, jako lutein, zeaxanthin, β -kryptoxanthin, β -karoten atd., u kterých je důležité, že lidské tělo je nedokáže syntetizovat „*de novo*“, a mohou posloužit mj. jako prekurzory vitamínu A. Droga obsahuje dále proteiny, aminokyseliny³⁶ (fenylalanin, lysin a leucin), vitamíny (A, B, C a K), a minerály vápník, železo, hořčík, fosfor, draslík, sodík, zinek, a vlákninu.

Pokud máme shrnout farmakologické vlastnosti chryzantémy, můžeme uvést účinky protizánětlivé, antioxidační, antibakteriální, protivirové, protirakovinné. Droga dokáže pomoci předcházení a léčbě chronických onemocnění, jako hypertenze, hyperlipidémie, hyperurikémie a diabetes mellitus typ 2. Může pomoci i u makulární degenerace související s věkem a obsahem karotenoidů i dále, např. u únavy očí.

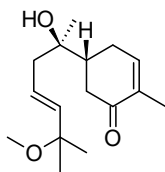
Tradiční čínská medicína (TCM) vidí užitečnost drogy v jejím vlivu na „patogenní teplo“ a toxiny, které se podobají zánětlivým faktorům, a mohou ovlivňovat příčiny neoplazmat (zhoubného bujení) a jeho virulentní vývoj. Proto vidí chryzantému jako prostředek „čištění tepla“ a detoxikaci (heat-clearing and detoxicating; HCD) a nezbytnou součást formulací TCM pro léčbu nádorových onemocnění. Výraz „patogenní teplo“ podle TCM není omezen pouze na horečku; může také pomoci při úpalu nebo jiných formách vnitřní teplotní nerovnováhy, neboť jak stárneme, je normální, že teplota v těle stoupá. Jiný příklad je, že ženy v menopauze mohou trpět návaly horka a výluh z drogy může pomoci rozptýlit toto tělesné teplo způsobem, který je přirozený a bezpečný. Příjemné a uží-



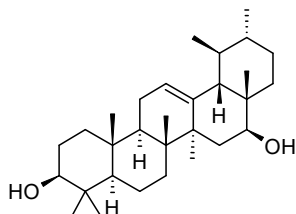
chryzantemorimic acid A



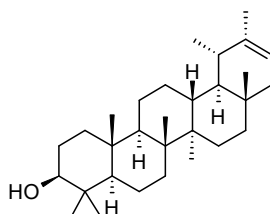
jinsidajuol A



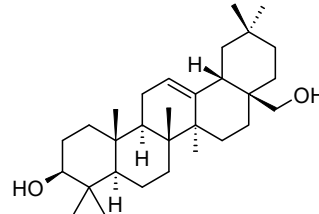
jinsidajuol B



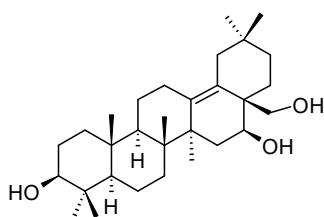
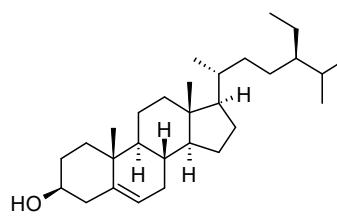
brein



pseudotaraxasterol



erythrodiol

heliantriol A₁

β-sitosterol

tečné je pít chryzantémový nálev v horkých letních měsících, kdy se zdá nemožné zůstat v pohodě. TCM používá drogu i jako lék na zlepšování zraku, a to už po více než 2000 let.

Tento chladivý bylinný nálev dle TCM také pomáhá předcházet srdečním problémům. Pití chryzantémy má zlepšit průtok krve, může snížit krevní tlak a léčit komplikace spojené se sníženou průchodností tepen a komplikace s křečovými žilami. Může také pomoci zmírnit příznaky spojené s vysokým krevním tlakem, jako jsou bolesti hlavy a závratě. Pití chryzantémového čaje může ovlivnit hladinu „špatného cholesterolu“ (LDL), a tím předejít oběhovým chorobám; viz β-sitosterol výše.

V rámci tradice lze nálev použít jako prostředek i k detoxikaci jater. Pití nálevu také pomáhá posílit imunitní systém, a navíc chryzantémy mají antivirové a antibakteriální vlastnosti.

Zdá se, že tento přírodní produkt, oceňovaný v rámci TCM i „západní“ medicíny využívající přírodní látky, má skutečně schopnost v řadě případů prospívat lidskému zdraví. SciFinder v souvislosti s touto drogou odkazuje na minimálně 37 tisíc patentů na nejrůznější humánní, většínou léčivé a dietní prostředky. Nicméně, i zde je třeba, aby skutečně nemocní konzultovali případné dlouhodobé či masivní použití drogy s lékařem. Článek přinášíme jako pokračování série, počaté začátkem století³⁷ a jehož poslední díl přinesl zprávu o steroidech³⁸ a ashwagandě³⁹.

LITERATURA

1. <https://www.vecteezy.com/free-png/chrysanthemum>, staženo 22. 4. 2025.
2. Eberhard W.: *Lexikon čínských symbolů: obrázková řeč Číny*, Volvox Globator, Praha 2001.
3. The Qui, 26. srpna 2020; <https://the-qi.com/blogs/journal/the-history-and-healing-power-of-chrysanthemum>, staženo 2. 4. 2025.
4. Konfucius: Li-t'i, tj. *Kniha obřadů nebo také Kniha zvyků*, <https://sacred-texts.com/cfu/liki/index.htm>, staženo 22. 4. 2025.
5. National Pharmacopoeia Commission: *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, Part I, str. 323. China Pharmaceutical Science and Technology Press, Beijing 2020.
6. Yang S.-Z. (ed.): *The Divine Farmer's Materia Medica: A Translation of the Shen Nong Ben Cao Jing*, Blue Poppy Press, Portland 1998.
7. Meng L.: *Collection of Works on Chrysanthemum* (Chinese Edition). Zhongzhou ancient books publishing house, Hong Kong 2015.
8. https://cs.wikipedia.org/wiki/Li_%C5%A0%E2%80%99-%C4%8Den, staženo 16. 4. 2025.
9. Breyn J.: *Prodromus fasciculi rariorum plantarum ...*, David Fridericus Rhetus, Gdaňsk 1680.
10. Breyn J.: *Exoticarum aliarumque minus cognitarum plantarum ...*, David Fridericus Rhetus, Gdaňsk 1678.
11. Körber V.: Časopis českého ovocnictví 3, 107 (1894).
12. d'Audibert de Ramatuelle T.: Journal d'histoire naturelle 2, 233 (1792).
13. Wang Y., Li Y., Guo W., Yang X., Qu J., Gao M., Chen S., Dong J., Li Q., Wang T.: Int. J. Mol. Sci. 23, 13767 (2022).
14. Liang Y., Liu T., Wang D., Liu Q.: Front. Pharmacol. 16, 1538311 (2025).
15. Liu Y., Lu C., Zhou J., Zhou F., Gui A., Chu H., Shao Q.: J. Ethnopharm. 330, 118198 (2024).
16. Liu G., Duan H., Zheng Y., Guo J., Wang D., Yan W.: Molecules 29, 4609 (2024).
17. Islam M. T. a 11 spoluautorů: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 398, 5757 (2025).
18. Jiang Y. F., Zhang W. B., Chen X. L., Wang W. J., Köllner T. G., Chen S. M., Chen F. D., Chen F.: Crit. Rev. Plant Sci. 40, 422 (2021).
19. Trincianti C., Naso M., Tosca M. A., Ciprandi G.: Children 12, 718 (2025).
20. Hao D. C., Song Y. J., Xiao P. G., Zhong Y., Wu P. L., Xu L. J.: Front. Plant Sci. 13, 973197 (2022).
21. Chen L., Liu Y., Huang X. J., Zhu Y. Y., Li J. X., Miao Y. H., Du H. Z., Liu D. H.: Chem. Biodivers. 18, e2100206 (2021).
22. Mottaghipisheh J., Taghrir H., Dehsheikh A. B., Zomorodian K., Irajie C., Sourestani M. M., Irajie A.: Pharmaceuticals 14, 1104 (2021).
23. Wan C., Liang Q., Ma Y., Wang Y., Sun L., Lai J., Wu J., Chen Z.: Front. Pharmacol. 16, 1503832 (2025).
24. Wagner H., Püls S., Barghouti T., Staudinger A., Melchart D.: *Flos Chrysanthemi – Juhua*, v knize: *Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicines*, díl V., (Wagner H., Püls S., Barghouti T., Staudinger A., Melchart D., ed.): Springer, Cham 2017.
25. Lu H. J., Tian Z. M., Cui Y. Y., Liu Z. C., Ma X. Y.: Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 19, 3130 (2020).

26. Yang P. F., Yang Y. N., He C. Y., Chen Z. F., Yuan Q. S., Zhao S. C., Fu Y. F., Zhang P. C., Mao D. B.: *Molecules* 24, 850 (2019).
27. Brazil, BR2011006547 A2 (2017).
28. Wei J.-C., Huang H.-H., Zhong N.-F., Gao Y.-N., Liu X.-L., Long G.-Q., Hu G.-S., Wang A.-H., Jia J.-M.: *Bioorg. Chem.* 116, 105395 (2021).
29. Akihisa T., Franzblau S. G., Ukiya M., Okuda H., Zhang F., Yasukawa K., Suzuki T., Kimura Y.: *Biol. Pharm. Bull.* 28, 158 (2005).
30. Takemura M., Endo S., Matsunaga T., Soda M., Zhao H.-T., El-Kabbani O., Tajima K., Iinuma M., Hara A.: *J. Nat. Prod.* 74, 120 (2011).
31. Ukiya M., Akihisa T., Tokuda H., Suzuki H., Mukaiyama T., Ichiishi E., Yasukawa K., Kasahara Y., Nishino H.: *Cancer Lett. (Shannon, Ireland)* 177, 7 (2002).
32. Cabeza M., Flores E., Heuze I., Sanchez M., Bratoeff E., Ramirez E., Francolugo V. A.: *Chem. Pharm. Bull.* 52, 535 (2004).
33. Rudkowska I., AbuMweis S. S., Nicolle C., Jones P. J.: *J. Am. Coll. Nutr.* 27, 588 (2008).
34. Hang H., Chen R., Wang C., Sun Y., Du D.: *Int. J. Biol. Macromol.* 285, 138224 (2025).
35. Kishimoto S., Ohmiya A.: *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 78, 263 (2009).
36. Matsushita A.: *Eiyo Shokuryo Gakkaishi (Journal of the Japanese Society of Food and Nutrition)* 10, 138 (1957), *Chem. Abstr.* 55, 145932 (1961).
37. Lapčík O., Čopíková J., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: *Chem. Listy* 101, 44 (2007).
38. Drašar P.: *Chem. Listy* 118, 368 (2024).
39. Jurášek M., Drašar P.: *Chem. Listy* 119, 160 (2025).

M. Jurášek^a, L. Opletal^b, and P. Drašar^a
^a*Department of Chemistry of Natural Products, University of Chemical Technology, Prague, Czech Republic,* ^b*Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University, Hradec Králové, Czech Republic):* **The Imperial Flower of the Autumn Sun, Full of Healing Power**

Chrysanthemum is described as a food, among other things, to obtain a delicious infusion, but also as a very interesting and effective medicinal herb, both from the point of view of traditional oriental medicine and contemporary "Western" medical practice and science.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: chrysanthemum, florist's Daisy, hardy garden mum, mum, chrysanth, tea, medicinal herb



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

O TOM, JAK KVÍTÍ SVATÉHO JANA ZAHÁNÍ NOČNÍ OBLUDY I ZLÉ DUCHY A ČLOVĚKU PROSPÍVÁ I ŠKODÍ

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika
jurasekm@vscht.cz; drasarp@vscht.cz

Došlo 21.8.25, přijato 12.9.25.

Článek popisuje léčivou rostlinu třezalku tečkovanou, historii jejího používání, obsahové látky a jejich biologickou aktivitu. Upozorňuje také na možné kontraindikace a negativní působení na účinnost některých léků.

Klíčová slova: třezalka tečkovaná, třezalky, Hypericum, hyperforin, hypericin, biologická aktivita, pozitivní a negativní účinky

Třezalka tečkovaná, *Hypericum perforatum* L. (*H. deidesheimense*, *H. vulgare*, *H. lineolatum*, *H. mixtum*, dříve t. obecná, někdy i třesalka, z čeledi třezalkovité (*Hypericaceae*), zastarale česky zvaná též svatého Jana květ, zvoneček sv. Jana, čarovník, prostřelenec, či mina svatá, německy Echte (Echt, Gewöhnliches, Durchlöcher-tes, Tüpfel-, Johanniskraut, Tüpfel-Hartheu, Herrgottsblut, anglicky perforate (či common) St John's-wort, též God's wonder plant, Witches herb, Klamath weed, Tipton's weed, Rosin-rose, Goat weed¹), je věky známá mocná léčivá bylina, která kvete právě od dne svatého Jana. V období antiky byla třezalka nazývána Cheirónův kořen podle nejstaršího z kentaurů, ušlechtilého a moudrého znalce lékařství, jenž naučil lékařskému umění Apollónova syna Asklépia (Eskulapa). Její sběr doporučuje i Tomáš Štítný ze Štítného², který ji uvádí pod názvem Mina svatá, *Joannis amor*.

Latinský název třezalky – *Hypericum* – pochází z řečtiny a popisuje doslova fakt, že Řekové ji zavěšovali nahoru (hyper) a nad svaté obrázky (eikon), protože tak, i podle Paracelsa, sloužila jako amulet proti zakletí a přízrakům. Pedanius Dioscorides (řecký botanik, lékař a chirurg římské armády), žijící v prvním století našeho letopočtu, popsal třezalku tečkovanou v díle Περί ὕλης ἰατρικῆς (latinsky *De materia medica*) pod názvem Uperikon³. Používána byla od nepaměti i ve staré Číně a v arabském světě.

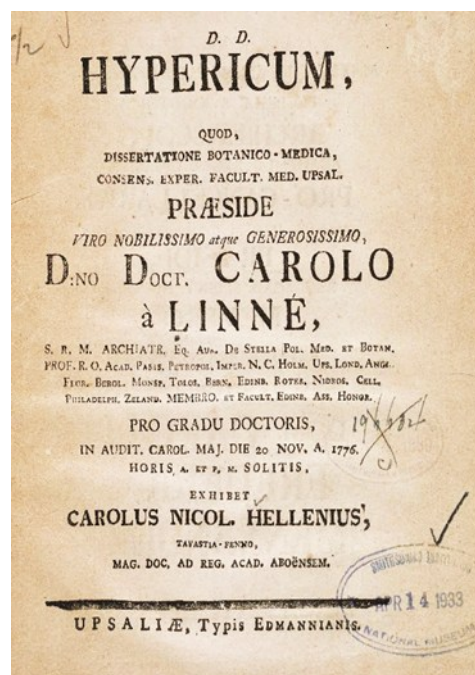
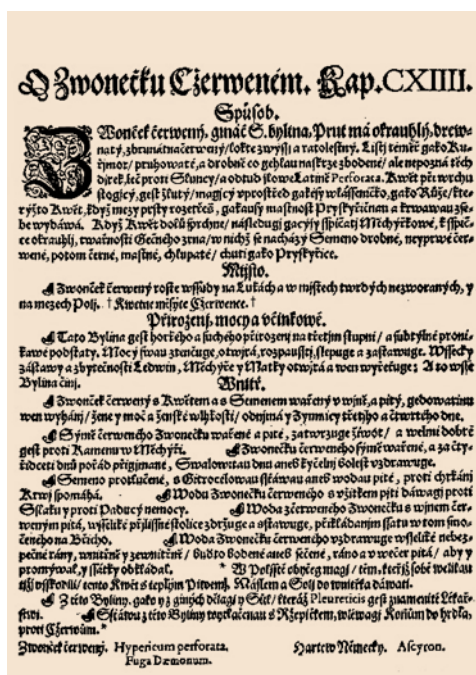
Třezalka je základní složkou devatera kvítí, sbíraného o svatojánské noci mj. na základě pověsti, že: „Bůh vida, že lidstvo jest týráno mnohými nemocemi, a že proto zlořečí, stvořil bylinu třezalku, a vložil do jejích listův i kořene moc, aby všeliké nemoci hojiti mohla. Lid se uzdravoval a přestal zlořečiti; ďáblov to bylo divno, že lidé se stali



Obr. 1. Stanghi Stanghi: Třezalka tečkovaná

tak najednou hodnými, pátral, co toho příčinou a shledal, že rostlinka – třezalka. V zlosti své propíchal listy bylince a ukousl kořen její. Od té doby má prý třezalka listy propíchané, kořen ukousnutý. Lid sbírá třezalku na sv. Jana Křtitele a myslí, že má moc zahánět kouzla a čáry.“⁴

Třezalka byla od pradávna považována za kouzelnou bylinu, která našla často uplatnění v magii, jako ochrana před bouří, bleskem i ohněm až po zklidňování náměsí-

Obr. 2. Matthioliho herbář (str. 325) O Zwončku Czerweném⁵ a Linného kniha o třezalce⁶

ných. Matthioli o ní píše: „Někteří při sobě nosí bylinu zwonečku červeného, proti nočním Obludám / a kauření, jeho w domích zahánějí zlé duchy – protož ji Fuga Daemonum („zaháněč démonů“) jmenují.“ Souvislost se zaháněním démonů dost možná spojili šamani a báby kořenářky s antidepresivními účinky extraktu drogy. Pak už byl jen krůček k zobecnění magické mocnosti. Běžně se v minulosti používala na čaje a tinktury pro léčbu úzkosti, deprese, nespavosti, zadržování vody, gastritidy a jako anthelmintikum. Je také účinná při léčbě noční inkontinence u dětí, externě se používá na obklady, např. na modřiny⁷.

V průběhu let byly pro léčbu hemoroidů a zánětů použity přípravky na bázi rostlinného oleje z třezalky. Byla též používána k léčbě vředů, řezů, drobných popálenin a odfenín (zejména těch, kde došlo k poškození nervů) a k léčení chorob dobytků⁸. Třezalka byla používána i jako zdroj žlutého barviva (ve vodném výluhu) a naopak červeného barviva⁹ (v ethanolickém extraktu). Je známo i použití květů jako přísady při výrobě medoviny¹⁰.

V současné době jsou u drogy třezalky klinicky prokázány silné antidepresivní efekty a má se za to, že je použitelná jako spolehlivá a bezpečná léčba úzkosti (anxiolytikum) a deprese (antidepresivum)¹¹. Účinek je vysvětlován inhibicí dopamin-β-hydrolasy (DBH), která transformuje dopamin na noradrenalin (norepinefrin), který hraje klíčovou roli v reakci těla na stres typu „bojovat či utéci“ („fight-or-flight“), jakož i regulaci vzrušení, pozornosti a kognitivní funkce.

Bohužel stávající klinická data týkající se její efektivity při řešení jiných psychiatrických a neurodegenerativ-

ních poruch nejsou dostatečná k formulování pevného a definitivního závěru¹². National Library of Medicine ukazuje data z 31 různých klinických testů¹³.

V TCM je třezalka řazena mezi rostliny, které pročišťují horko, což znamená, že se používá k léčbě stavů spojených s přehřátím organismu, záněty a infekcemi¹⁴.

Mezi další dlouho známé aktivity patří použití extraktu drogy (k přípravě nálevů a specialit se používají kvetoucí vrcholky rostliny) jako prostředku protizánětlivého a rány hojícího^{15,16}, dále jako analgetikum, antiseptikum, spasmolytikum, diuretikum, adstringens, cholagogum, expektorans, při léčbě široké škály poruch, včetně plicních problémů, problémů močového měchýře, průjmu⁷.

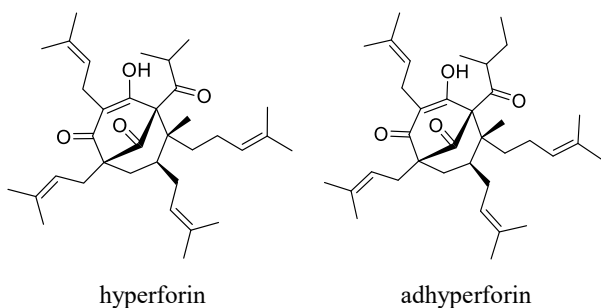
V novější literatuře jsou popsány též účinky extraktu antidiabetické¹⁷ a proti akutní pankreatitidě¹⁸, případně ve směsi s neemovým olejem¹⁹ k léčení kožních vředů souvisejících s kalcinózou v systémové skleróze.

Stojí za zmínku antibakteriální aktivita při střevních potížích²⁰, najmě proti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* a *Corynebacterium diphtheria*, za niž je údajně odpovědný hyperforin.

Hypericin a hyperforin jsou hlavní biologicky aktivní komponenty třezalky tečkované (*Hypericum perforatum*). Hyperforin má obecně aktivitu antibakteriální, proapoptickou, antiproliferativní a protizánětlivou. Kromě toho data studií *in vitro* a *in vivo* ukázala, že hyperforin je slibná molekula s potenciálními aplikacemi v neurologii a psychiatrii pro své antidepresivní vlastnosti. Hyperforin zhoršuje absorpci neurotransmiterů a stimuluje neurotrofický faktor odvozený z mozku (BDNF)/TRKB neurotro-

fické signalizační dráhy, dospělou hipokampální neurogenezi a mozkové homeostázy zinku. Ve skutečnosti je hyperforin biomolekula s komplexním neurofarmakologickým profilem, z nichž jeden představuje schopnost hyperforinu ovlivňovat homeostázi kationtů, jako jsou Ca^{2+} , Na^+ , Zn^{2+} a H^+ . Patofyziologická relevance těchto aktivit je v současné době neznáma²¹.

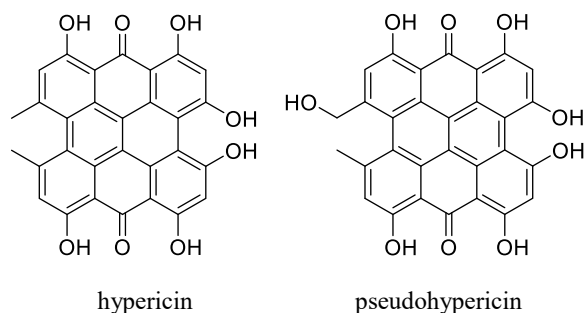
Strukturně velice blízký adhyperforin má velmi podobný farmakologický profil jako hyperforin a působí jako aktivátor iontového kanálu TRPC6, čímž inhibuje zpětné vychytávání různých neurotransmiterů, včetně serotoninu, norepinefrinu, dopaminu, GABA a glutamátu. Adhyperforin se nachází v třezalce tečkované v koncentraci přibližně rovné desetíně obsahu hyperforinu²².



Hypericin je silný fotosensitizer. Má má být zodpovědný za aktivitu antitumorální – antikarcinogenní, anti-proliferativní, proapoptotickou, anti-invazivní, antimetastatickou, antiangiogenní^{23–27} a antivirální, dokonce proti HIV²⁸, navíc zesílenou účinku světla²⁹, což může být způsobeno vznikem singletového kyslíku³⁰. Hypericiny mají fotosenzibilující efekt, což znamená, že tkáň, ve které jsou obsaženy, reaguje na světlo. Mohou být tudíž využity v protinádorové fotodynamické terapii (PDT) a diagnostice (PDD)^{31,32}. Hypericin má ve vodě absorpční maxima u 598, 560, 324 a 285 nm a fluorescenční emisní maxima při 598 a 649 nm (cit.³³).

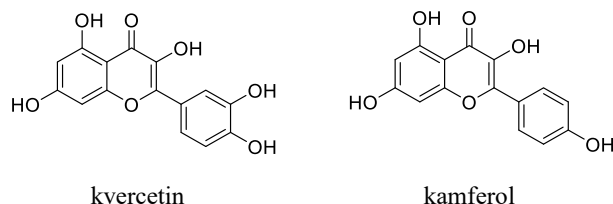
Hypericin silně inhibuje monoamin oxidasy MAO-A a -B, které se podílejí na degradaci aminových neurotransmiterů, jako serotonin, norepinefrin a dopamin. Hypericiny přispívají též i k antidepressivnímu účinku³⁴.

Droga je obecně standardizována na hypericin a hyperforin. V surové nati kolísá obsah hypericinů v závislos-

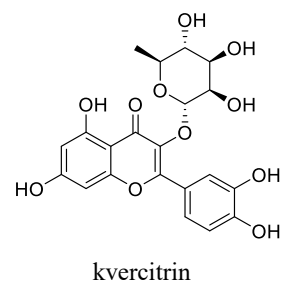
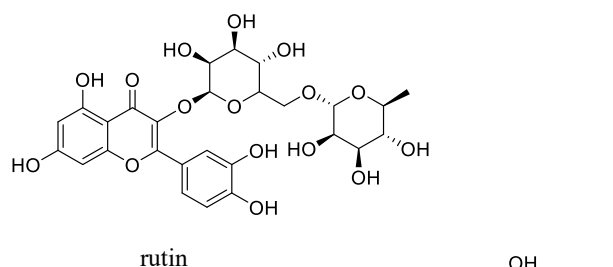
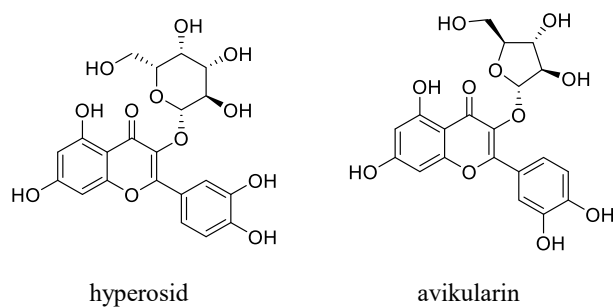


ti na vývojovém stádiu rostliny v rozmezí od 0,03 do 0,3 %, kdežto hyperforinu bývá 3 % až 5 %.

U třezalkové drogy je dále zajímavá aktivita antifungální, která má být způsobena flavonoidy jako kvercitrin, hyperosid, avikularin, rutin, kvercetin, kamferol³⁵.



Pokud se týče nejdůležitějších obsahových látek třezalky tečkované (je to jediná třezalka, považovaná za léčivou bylinu a jediné tu máme v tomto článku na mysli), bylo zjištěno více než 150 různých sloučenin, z nichž řada má prokazatelný biologický účinek. Z medicínského hlediska nejvýznamnější obsahové látky náležejí mezi naftodiantrony (hypericin, pseudohypericin), florigluciny (hyperforin, adhyperforin) a flavonoidy (obvykle v droze 7 až 12 %). Dále jsou obsaženy xanthony (od 1 %), trisloviny (od 3 %), procyanidiny, fenolické sloučeniny (kyseliny kávová, chlorogenová a *p*-kumarová), deriváty



antrachinonu, esenciální oleje aj. V menším rozsahu pak kyseliny nikotinová, myristová, palmitová a stearová, karotenoidy (žlutá až červená barviva), cholin, pektin, uhlovodíky a vyšší alkoholy³⁶. Izolována byla i řada aminokyselin i γ -aminomáselná kyselina (GABA)³⁷ a fytosteroly (sitosterol).

Třezalka tečkovaná má dlouhou historii použití jako léčivá rostlina³⁸. Během posledních 20 let se stala hlavní alternativní léčbou deprese³⁹ a také slibným kandidátem terapie rakoviny, zánětu, bakteriální a virové infekce a dalších poruch. Farmakologické studie ukazují, že extrakty třezalky mají neuroaktivní vlastnosti. Chemical Abstracts (SciFinder) evidují přes 12 300 článků o třezalce.

Četné studie provedené v Německu v 90. letech naznačují, že jednotlivci vykazující mírnou až střední depresi, mohou být léčeni touto drogou, podobně jako syntetickými antidepresivy. Droga často vykazuje lepší účinek než syntetický lék, a to u všech forem deprese.

Lze očekávat, že se droga stane účinným pomocníkem při léčbě i jiných poruch, zejména některých onemocnění kůže, zánětu a určitých forem rakoviny. Prokázala antibakteriální a antivirovou aktivitu, ačkoli její vyhlídka stát se prostředkem proti HIV je zatím sporná. Nedávno byly prokázány i antioxidační a neuroprotektivní vlastnosti. Většina klinických studií ukazuje, že droga je relativně bezpečná, zejména při typických dávkách.

Třezalka, podobně jako určité léky (např. fenobarbital aj.), zvyšuje aktivitu některých enzymů, konkrétně cytochromu P450 3A4 a P-glykoproteinu, které v organismu odbourávají léčiva, například léky ze skupiny inhibitorů proteinové kinas⁴⁰. Užívání třezalky proto může vést k rychlejšímu metabolismu, a tedy k nižší účinnosti inhibitorů kinas.

Jak již bylo uvedeno výše, může mít droga a její extrakty neblahé interakce s jinými léky, zejména léky, které ovlivňují funkci enzymů jater a střev. Jednotlivci, kteří užívají třezalku spolu s dalšími medikamenty, by si proto měli být vědomi takových potenciálních interakcí s drogami a měli by její využití svým poskytovatelům zdravotní péče hlásit. Droga a výrobky z ní by neměly být používány během těhotenství a kojení. Třezalka může, jak bylo řečeno, negativně ovlivňovat účinnost některých léků^{41,42}, včetně antidepresiv a antikoncepcí. Mezi léčiva, která třezalkou ztrácí účinek, patří například většina makrolidových antibiotik (erytromycin, klaritromycin), azolová antimykotika (itakonazol, ketokonazol), specifické blokátory kalciových kanálů (např. nifedipin), dále látky zlepšující poměr „špatného“ lipoproteinu s nízkou hustotou (Low Density Lipoprotein) LDL a „hodného“ lipoproteinu s vysokou hustotou (High Density Lipoprotein) HDL, kterým lékaři říkají naprosto mylně hodný a špatný „cholesterol“, (např. simvastatin), antivirotika (např. indinavir, nelfinavir, ritonavir, sachinavir, efavirenz, nevirapin), antiepileptika (karbamazepin, fenobarbital, fenytoin, zde snížení jejich hladiny může vést k propuknutí záchvatů), mj. i léky užívané po transplantacích (cyklosporin, kde snížení jejich hladin může vést až k odmítnutí transplantované tkáně), látky, používané

k léčbě dýchacích obtíží, zejména u astmatu a chronické obstrukční plicní nemoci (CHOPN) (theofylin), antikoagulanty (warfarin), kardiotonika (např. digoxin)¹⁰ a chemoterapeutika používaná při léčbě rakoviny (irinotecan aj.)⁴³.

Stejně jako u jakéhokoli bylinného léku se doporučuje každému jednotlivci, který ji používá, potažmo dlouhodobě, poradit se s lékařem⁴⁴.

Třezalka tečkovaná je toxická pro četná domácí zvířata, jako jsou krávy, ovce a koně. Když tato zvířata přicházejí do kontaktu s rostlinou, obvykle při pastvě, vyvinou se u nich vážné příznaky. Prvními příznaky je zčervenání kůže doprovázené otokem, za kterým následuje nekróza. Bílá kůže, která není pigmentovaná, jako je nos a uši určitých plemen ovcí, je otravou nejvíce postižena. Mladá zvířata jsou náchylnější k otravě. Rostlina je nejvíce toxická na jaře (kdy je zrovna pastva pro býložravce nejvíce žádaná), ale zachovává si toxické účinky i při sušení sena. Navíc postižená zvířata se stanou vysoce fotocitlivá a vystavení slunečnímu světlu může zhoršit jejich příznaky. Zvířata s příznaky by měla být přesunuta do temné oblasti, případně jim podáváním antihistaminik nebo protizánětlivých léčiv mírnit příznaky. Je také známo, že mléko zvířat pasoucích se na třezalce může mít načervenalou barvu vlivem červeného hypericinu⁴⁵.

U lidí je popsán problém fototoxicity méně vážný, i když citlivé a málo pigmentované a nezahalené osoby mohou mít na slunci, či při ozařování, např. v kosmetických opalovacích salonech, kožní problémy. Přípravky z třezalky by se tudíž neměly používat před sluněním⁴⁶ a při používání jiných fotosenzitizátorů (piroxikam, tetracyklin aj.). Běžnými dalšími vedlejšími účinky jejich „nadměrného“ užívání jsou bolesti hlavy, nevolnost, únava, sucho v ústech, ospalost a gastrointestinální problémy. Fotocitlivost může na kůži zvýšit i lokální kontakt s mizou třezalky¹⁰.

Současná produkce drogy je, včetně tablet, kapslí, čajů a tinktur, podle amerického Národního ústavu zdraví (NIH) v Evropě v hodnotě 6 miliard USD, kdežto v USA pak pouze ve stovkách milionů dolarů, protože syntetická antidepresiva jsou zde populárnější³⁸.

Prinášíme tento článek jako další příspěvek do série učebních textů popisujících různé zajímavé aspekty chemie přírodních látek^{47–49} i proto, že chceme takto reagovat na množství smyšlenek, poloprávd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Je nabíledni, že zkoumání přírodních látek, jakožto látek z obnovitelných zdrojů je jednou z cest, jak laciným a efektivním způsobem přispět ku všeobecnému „udržitelnému“ prospěchu^{50,51}.

LITERATURA

1. Velingkar V. S., Gupta G. L., Hegde N. B.: *Phytochem. Rev.* 16, 725 (2017).
2. Štítný ze Štítného T. (Erben K. J., red.): *Tomáše ze Štítného Knížky šestery o obecných věcech křesťanských*, str. 307, ř. 30. Pražská universita, Praha 1852.

3. Dioscorides Pedanius, z Anazarbu: *De Materia Medica, Libri Quinque*, v *Codex Vindobonensis*, Constanti-nopole 515 n. l.
4. Košťál J.: Časopis českého lékárnictva (Litoměřice: Emil Graf) 14, 350 (1895).
5. Mattioli P. A., Huber z Risenpachu A., Adam z Velesla-vína D.: *Herbář, aneb, Bylinář doktora Petra Ondřege Mathiola*, str. 325v. B. Kočí, Praha 1924–1928.
6. Linné von C.: *Hypericum, typis Edmannianis*. Upsaliae 1776.
7. Grieve A.: *Modern Herbal*. Penguin, New York 1984.
8. Zkušený hospodář: *Zlatá domácí kniha. Nevyčerpatel-ná pokladnice, domácí věrný rádce hospodářský pro každého, komuž domácnost jest milá*, Díl II. V komisi Kněhkupectví Mikuláše a Knappa, Praha 1872.
9. P. J.: *Posel z Prahy, kalendář historický a politický na obyčejný rok 1868*. Tiskem Rohlíčka a Sieverse vydal I. L. Kober, Praha 1867.
10. Facciola S.: *Cornucopia: A Source Book of Edible Plants*. Kampong Publications, Vista (CA) 1992.
11. Libiger J., Švestka J., Höschl C.: *Psychiatrie*. Tegis, Praha 2002.
12. Suryawanshi M. V., Gujarathi P. P., Mulla T., Bagban I.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 397, 3803 (2024).
13. <https://www.clinicaltrials.gov/expert-search?term=Hypericum>, staženo 15. 7. 2025.
14. Monteiro M. D., Dias A. C. P., Costa D., Almeida-Dias A., Criado M. B.: Healthcare (Basel) 10, 1774 (2022).
15. Hammer K. D. P., Birt D. F.: Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 54, 781 (2014).
16. Eğri Ö., Erdemir N.: Artif. Cells, Nanomed. Biotech-nol. 47, 1404 (2019).
17. Arokiyaraj S., Balamurugan R., Augustian P.: Asian Pacific J. Trop. Biomed. 1, 386 (2011).
18. Genovese T., Mazzon E., Di Paola R., Muià C., Crisafulli C., Menegazzi M., Malleo G., Suzuki H., Cuzzocrea S.: Shock 25, 161 (2006).
19. Jurášek M., Drašar P.: Chem. Listy 118, 475 (2024).
20. Guerrero-Encinas I., Gonzalez-Gonzalez J. N., Ayala-Zavala J. F., Gonzalez-Aguilar G. A., Ledesma-Osuna A. I., Lopez-Mata M. A., Morales-Figueroa G. G., Quihui-Cota L.: Rev. Bras. Farmacogn. 34, 236 (2024).
21. Bouron A.: Phytother. Res. 38, 636 (2024).
22. Jensen A. G., Hansen S. H., Nielsen E. O.: Life Sci. 68, 1593 (2001).
23. Hostanska K., Reichling J., Bommer S., Weber M., Saller R.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 56, 121 (2003).
24. Jendželovská Z., Jendželovský R., Kuchárová B., Fedoročko P.: Front. Plant Sci. 7, 560 (2016).
25. Martarelli D., Martarelli B., Pediconi D., Nabissi M. I., Perfumi M., Pompei P.: Cancer Lett. 210, 27 (2004).
26. Gartner M., Müller T., Simon J. C., Giannis A., Sleeman J. P.: ChemBioChem 6, 171 (2005).
27. Donà M., Dell'Aica I., Pezzato E., Sartor L., Calabrese F., Della Barbera M., Donella-Deana A., Appendino G., Borsarini A., Caniato R., Garbisa S.: Cancer Res. 64, 6225 (2004).
28. Lavie G., Valentine F., Levin B., Mazur Y., Gallo G., Lavie D., Weiner D., Meruelo D.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86, 5963 (1989).
29. Degar S., Prince A. M., Pascual D., Lavie G., Levin B., Mazur Y., Lavie D., Ehrlich L. S., Carter C., Meruelo D.: AIDS Res. Hum. Retroviruses 8, 1929 (1992).
30. Durán N., Song P.-S.: Photochem. Photobiol. 43, 677 (1986).
31. Hu J., Yu Y., Song J.: Med. Oncol. 42, 317 (2025).
32. Mischkulnig M. a 15 spoluautorů: Diagnostics 14, 2423 (2024).
33. Wynn J. L., Cotto T. M.: J. Phys. Chem. 99, 4317 (1995).
34. Linde K.: Forsch. Komplementmed 16, 146 (2009).
35. Saddiqe Z., Naeem I., Maimoona A.: J. Ethnopharm. 131, 511 (2010).
36. DerMarderosian A., Beutler J.: *The Natural Review of Products, Facts and Comparisons*. St. Louis, MO 2002.
37. Greeson J. M., Sanford B., Monti D. A.: Psycho-pharmacology 153, 402 (2001).
38. Klemow K. M., Bartlow A., Crawford J., Kocher N., Shah J., Ritsick M.: *Medical Attributes of St. John's Wort (Hypericum perforatum)*, kapitola 11, v knize: Benzie I. F. F., Wachtel-Galor S. (ed.): *Herbal Medi-cine: Biomolecular and Clinical Aspects*, 2. vyd. CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton FL 2011.
39. Bongiorno P., LoGiudice P.: Nat. Med. J. 2, 3 (2010).
40. Bukowska B., Grzegorowska A., Szczerkowska-Majchrzak E., Bukowski K., Kadac-Czapska K., Grembecka M., Broncel M.: Int. J. Mol. Sci. 26, 5188 (2025).
41. Nobakht S. Z., Akaberi M., Mohammadpour A. H., Tafazoli M. A., Emami S. A.: Iranian J. Basic Med. Sci. 25, 1045 (2022).
42. Tůmová L., Bajarová J.: Praktické Lékárenství 2, 28 (2006).
43. <https://bezpecnostpotravin.cz/riziko-z-konzumace-trezalky-teckovane/>, staženo 17. 7. 2025.
44. <https://www.linkos.cz/slovnicek/hypericum-perforatum-cyp3a4/>, ISSN 2570-8791, staženo 12. 7. 2025.
45. Burka M.: Vesmír 15, 171 (1937).
46. <https://www.lekarna.cz/clanek/trezalka-bylinka-dvou-tvari/>, staženo 16. 7. 2025.
47. Eremia N. G., Coșelea O., Jereghi V., Sucman N., Mardari T., Cataraga I., Macaev F. Z.: Chem. Listy 118, 668 (2024).
48. Grbavčić M., Jurášek M., Drašar P.: Chem. Listy 118, 448 (2024).
49. Franc A.: Chem. Listy 118, 427 (2024).
50. Jurášek M., Cabalka J., Drašar P.: Chem. Listy 118, 547 (2024).
51. Jurášek M., Drašar P.: Chem. Listy 118, 475 (2024).

M. Jurášek and P. Drašar (*Institute of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic*): **How St. John's Wort Drives Away Night Monsters and Evil Spirits, and Benefits and Harms Humans**

The article describes the medicinal plant St. John's wort, the history of its use, its constituents and their biological activity. It also warns about possible contraindications and negative effects on the effectiveness of some drugs.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: St. John's wort, Hypericum, hyperforin, hypericin, biological activity, positive and negative effects



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

O HOŘKÉM HOŘCI A HOŘKÉM HOŘEČKU

MICHAL JURÁŠEK a PAVEL DRAŠAR

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika
drasarp@vscht.cz

Došlo 3.9.25, přijato 25.9.25.

Článek přináší základní informace o biologicky aktivních látkách z hořců v tradiční i soudobé léčitelské praxi a o uplatnění hořců ve východní medicíně, přináší též informace o intenzitě hořkosti některých obsahových sloučenin.

Klíčová slova: hořec, hořeček, *gentiana*, *gentianella*, TCM, ayurveda

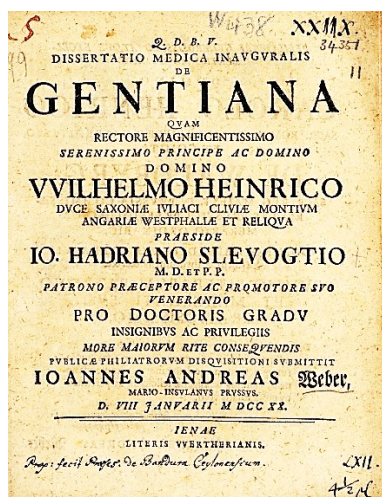
Gentiana Linn. je největší rod v čeledi hořcovitých a zahrnuje více než 360 druhů, včetně v Čechách a na Slovensku „vyhubeného“ (cit.¹) a posléze „nepůvodního“ hořce žlutého (*Gentiana lutea* L., též hořec velký, gelber Enzian), který je významným zástupcem hořců mezi léčivými bylinami, stejně jako některé asijské druhy. Jeho kořen je využíván ve farmacii (oficiální droga je uvedena v Evropském lékopisu Ph. Eur. 11. (cit.²) pod názvem *Radix gentianae*, uvedena je tam i *Gentianae tinktura*, ba i v lékopisu Českém 1997 (cit.³). Tradičně je používán v bylinném léčitelství při zažívacích poruchách. Tlumí dyspeptické projevy při poruchách funkce žlučníku, jater a slinivky. Podporuje krvetvorbu, funkce centrální nervové soustavy a dá se využít jako celkové tonikum při rekonvalescenci po těžkých chorobách. Zevně může být droga použita na nehojící se a zduřelé rány. Dokonce byla indikována kravám na zlepšení kvality mléka⁴.

Jak praví Všemír Berchtold⁵: „*Gmého, české nosj pro hořkost swau; latinské ale má na památku Gentiana krále illirského čili slowanského*“ (Správně *Gentios* (řecky: Γένθιος, albánsky: Genti) byl ilýrský král z kmene Labeatů. Vládl v letech 181–168 př. n. l. a údajně objevil blahodárné účinky hořce⁶).

Nejstarším autorům známým univerzitním dokumentem, popisujícím hořec, je doktorská disertační práce Webera Johanna Andrease z roku 1720 z University v Jeně, která se nicméně opírá o všechny klasiky, jako byli Dioscorides, Plinius, Galenus, Matthioli a další. Tato práce se již ve své době zabývala mj. faktem, že tehdy známá literatura nebyla v určování rostlin příliš přesná a obsahovala mnoho různých názvů pro jednu rostlinu, a naopak jeden název pro rostliny různé. Někteří taxonomové v minulosti totiž spojovali i rody *Gentianella* (hořeček) a *Gentiana*



Obr. 1. Hořec žlutý⁷, hořeček⁸, hořec (modrý)⁹



Obr. 2. Frontispice Weberovy disertace



Obr. 3. Horec borovička a Horec vodka (Prelika, a.s. Prešov)

(hořec), v současné taxonomii jsou však řazeny do odlišných podkmennů a nejsou bezprostředně příbuzné¹⁰.

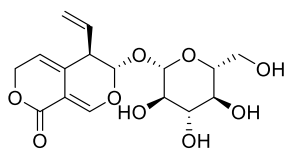
Turista se jistě pamatuje na horské chaty na Slovensku, kde se téměř všude u nálevního pultu setkal s pětilitrovou sklenicí od okurek plnou kořenů hořce zalitých borovičkou¹¹ či jinou kořalkou. Tento elixír, nazývaný „koreňovica“ osvěžil, a jak je psáno výše i oléčil turistu na těle i na duši. Kořen se používal k výrobě lihovin i po fermentaci¹², nejen po maceraci¹³. Kořen hořce je častou součástí hořkých alkoholických specialit, jako vermuty, aperitivy, likéry (Jägermeister), amary (Fernet-Branca), či „bitters“ (Angostura bitters)¹⁴. Jak píše Presl¹⁵: „*Dělají z něho nápoj líhowý i ohořčují jím kořalky a rosolky. Též jej dávají do piva na místo chmele.*“ Před časem jsme dokonce v tomto časopise přinesli originální předpis na výrobu Becherovky podle Jana Bechera z roku 1866, kde je kořen hořce jednou z hlavních surovin¹⁶.

V dnešním Slovensku se prodává borovička a vodka (a řada dalších specialit) s příchutí hořkého extraktu kořene hořce. Je to o to zajímavější, že gentiopikrosid v hořci

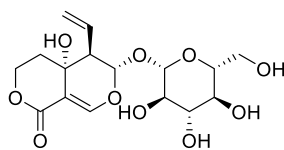
obsažený může být použit při léčbě alkoholické hepatostatózy (ztučnění jater)^{17,18}.

Hlavními složkami lékopisné³ suroviny (*Radix gentianae*; usušené úlomky kořenů a oddenků hořce) jsou hořké* sekoiridoidy gentiopikrosid (gentiopikrin; 2–8 %, někdy až téměř 10 %), swerosid (0,05–0,08 %), amarogentin (0,01–0,08 %), swertiamarin (swertiamarosid, swertimarin) a příbuné amaropanin a amaroswerin, deglukosyltriflorosid a desacetylcentapikrin.

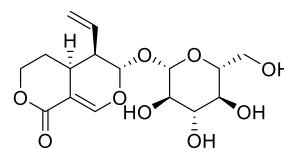
Zřejmě vůdčí sloučeniny ve vyvolání pocitu hořkosti jsou amarogentin¹⁹ (hořkost 58 000 000, cit.²⁰) a amaroswerin (hořkost 58 000 000, cit.²¹); k hořkosti dále přispívají amaropanin (hořkost 20 000 000, cit.²¹), desacetylcentapikrin (hořkost ca. 4 000 000, cit.²²), sekoiridoidy gentiopikrin (hořkost 12 000, cit.²³) a swerosid (hořkost ca. 12 000, cit.²⁰). Nejvíce zastoupená hořká komponenta, gentiopikrosid (hořkost 11 600), má reálnou možnost přispět k léčbě různých onemocnění, včetně poruch zažívacího traktu, maligních změn, neurologických poruch, mikrobiálních infekcí, poruch tvorby kostí, zánětlivých stavů a dalších²⁴.



gentiopikrosid

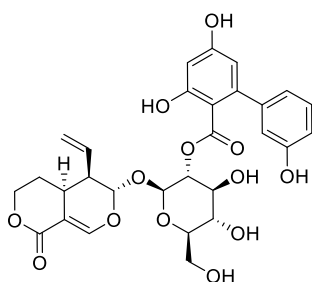


swertiamarin

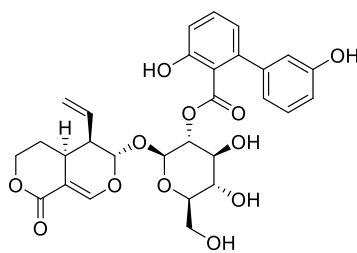


swerosid

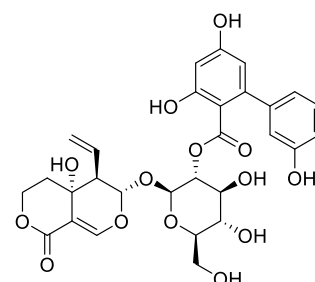
* Hořkost se obvykle určuje porovnáním hořkosti látky se známým standardem, často chinin-hydrochloridem (hořkost 200 000) a je vyjádřena jako reciproční ředění, které stále vytváří detekovatelnou hořkou chuť (EDQM. European Pharmacopoeia, 10th ed.; EDQM: Strasbourg, France, 2019). Hodnota hořkosti 1000 znamená, že 1 g látky nebo extrakt 1 g léčiva v 1000 ml vody chutná ještě hořce. Hořkost v tomto smyslu není identická s hodnotami IBU či EBU u piva (Verhoef B.: Velká encyklopedie piva, Rebo, Čestlice 2003).



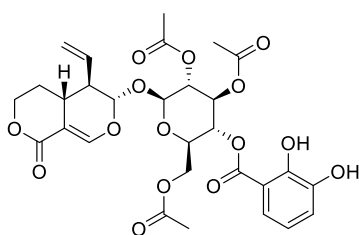
amarogentin



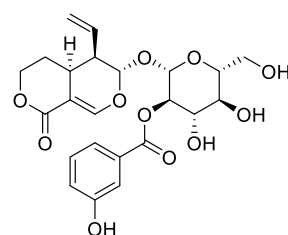
amaropanin



amaroswerin

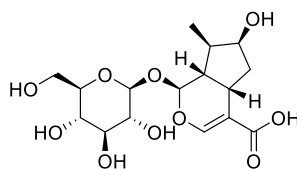


deglukosyltriflorosid

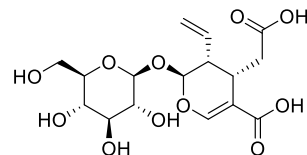


desacetylcentapikrin

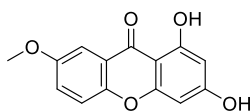
Mezi další složky patří xanthy (až 0,1 %), jako je gentisin (gentianová kyselina, gentianin), isogentisin, methylgentisin (série zejména lékařských a farmaceutických zdrojů popisují tuto látku názvem, ale neříkají, která z obou hydroxyskupin gentisinu je methylována, SciFinder takový triviální název neregistruje, jediná dohledatelná citace²⁵ látky ani struktury gentisineu a 1-hydroxy-3,7-dimethoxyxanthonu neuvádí.)



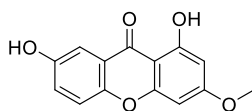
loganová kyselina



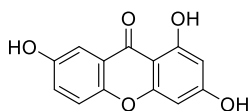
sekologanosid



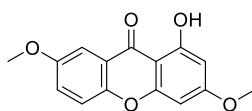
isogentisin



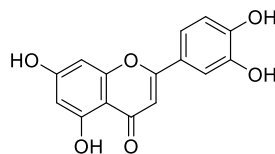
gentisin



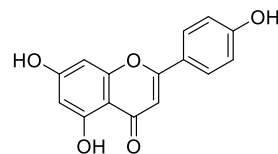
gentisein



1-hydroxy-3,7-dimethoxyxanthon



luteolin

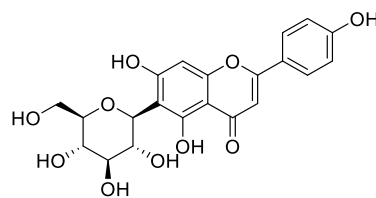


apigenin

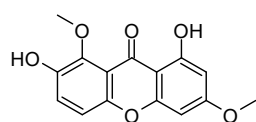
Další větší skupinou jsou iridoidy, kyselina loganová (loganinová) a sekologanosid.

Přítomny jsou také flavonoidy jako luteolin (cyanidenon, digitoflavon, flacitrán, luteolol, Weld lake, Yama Kariyasu), apigenin, isovitexin (homovitexin, apigenin-6-C-β-D-glukosid, avrosid, isoavrosid, saponaretin), fytosteroly a esenciální olej (0,1–0,2 %).

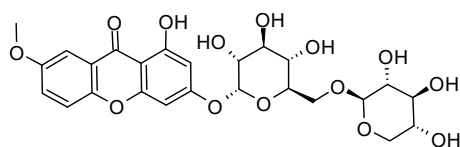
Sušené kořeny obsahují 30–55 % sacharidů, jako jsou monosacharidy (D-glukosa a D-fruktosa), disacharidy (sacharosa a gentiobiosa), trisacharidy (gentianosa 2,5–8,0 %) a polysacharidy (pektiny).



isovitexin



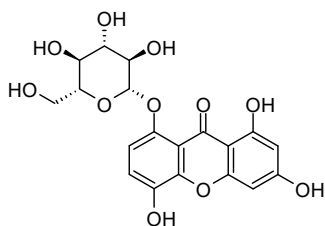
gentiakaulein



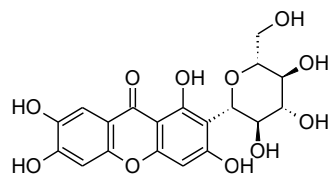
gentiosid

Kořen hořce lékopisné kvality musí mít hodnotu hořkosti nejméně 10 000 a musí také obsahovat nejméně 33 % ve vodě rozpustného extraktu (Evropský lékopis 2010)²⁶.

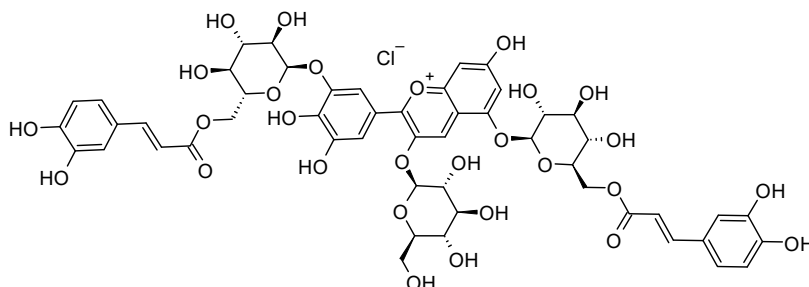
Klasická ayurveda používá oddenek himalájské *Gentiana kurroo* Royle¹⁷ (indický či himalájský hořec, trāyamāṇa, त्रायमाण), který obsahuje zejména gentisin, swertiamarin, gentiopikrosid (hlavní komponenta), amaro-gentin, swerosid, látky, obsažené v našem *Radix gentianae*. Jako látky specifické pro trāyamāṇu (které se nalézají i v jiných drogách) můžeme jmenovat gentiakaulein



norswertianolin



magniferin



gentiodelfin

(gentiakaulen), gentiosid, norswertianolin (demethylbellidifolin-8-*O*-glukosid), mangiferin²⁷.

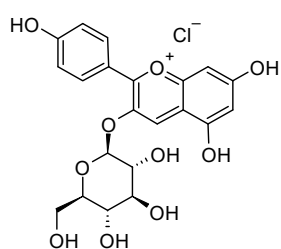
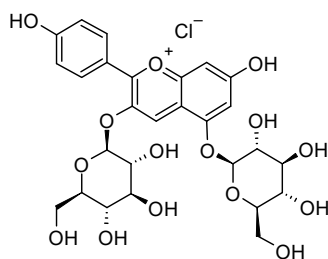
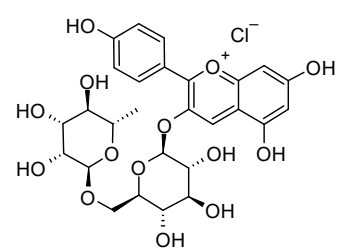
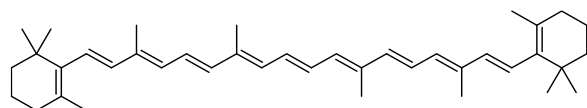
Ayurveda používá trāyamāṇu jako princip chladivý (śīta) a sladký (madhura), tlumící gulmu (falešné břišní bulky způsobené nadýmáním, lépe řečeno nerovnováhou tří dōši (vata, pitta a kapha)), horečky, poškozenou kaphu (ta ovlivňuje zejména tělesné tekutiny, kosterní a svalovou strukturu) a krevní poruchy. Léčí závratě, žízeň, tuberkulózu, vyčerpání, otravy a zvracení²⁸.

Tradiční čínská medicína²⁹ používá oddenek hořce (*Gentiana macrophyllae radix*, GMR, qin jiao, 秦艽) jako tradiční čínskou drogu střední třídy s účinky rozptylování vlhkosti způsobené větrem, odstraňování vlhkého tepla, snižování nedostatku tepla a úlevy od bolesti. Byla použita k léčbě bolesti kloubů, mrtvice, dětské horečky a žloutenky způsobené vlhkým teplem atd. Vydání Čínského lékopisu z roku 2020 uvádí³⁰, že GMR je sušený kořen *Gentiana macrophylla* Pall. (se synonymy *Gentiana straminea* Maxim., *Gentiana crassi-caulis* Duthie ex Burk. nebo *Gentiana dahurica* Fisch). Liu a spol.²⁹ uvádějí 191 chemických sloučenin v GMR, z nichž hlavní byly uvedeny výše (gentiopikrosid je opět uváděn jako hlavní obsahová látka). Vidíme zde mj. 12 iridoidů, 50 sekoiridoidů, 8 polymerních iridoidů, 5 triterpenoidů oleananového a ursanového typu, 12 flavonoidů, 7 steroidů, 5 alkaloidů, převážně obsahujících pyridinové jádro, lignany, seskviterpeny a fenylpropanoidy.

Moderní farmakologické studie ukázaly, že farmakologická aktivita GMR se projevuje především protizánětlivými účinky. Má také další aktivity, jako protinádorovou, hepatoprotektivní, imunoregulační a kardiostimulační.

Krásná modrá barva okvětních lístků většiny hořců je založena na charakteristické spektrální absorpci stabilního anthocyaninu, gentiodelfinu³¹, s libežným systematickým názvem 5-6-*O*-(2*E*)-3-(3,4-dihydroxyfenyl)-1-oxo-2-propen-1-yl-β-D-glukopyranosyloxy-2-3-6-*O*-(2*E*)-3-(3,4-dihydroxyfenyl)-1-oxo-2-propen-1-yl-β-D-glukopyranosyloxy-4,5-dihydroxyfenyl-3-(β-D-glukopyranosyloxy)-7-hydroxy-1-benzopyrylium-chlorid, který byl izolován ze zmíněných okvětních lístků ve výtěžku 0,01 % (cit.³²).

Za žlutou až oranžovou barvu *G. lutea* jsou zodpovědné karotenoidy³³, najmě pak β-karoten, za oranžový tón *G. lutea* L. var. *aurantiaca* pak anthocyaniny, jako pelargonidin-3-*O*-glukosid, pelargonidin-3,5-*O*-diglukosid

pelargonidin-3-*O*-glukosidpelargonidin-3,5-*O*-diglukosidpelargonidin-3-*O*-rutinosid β -karoten

(pelargonin) a pelargonidin-3-*O*-rutinosid³⁴, samozřejmě ve formě soli.

Hořce a jejich „příbuzní“ představují nejen nádheru přírody, ale i léčivou sílu, kterou příroda moudře vložila do čarokrásných bylin tak, aby z nich moudří lidé měli užitek a radost.

Článek je součástí série příspěvků popisujících různé chemické aspekty problematiky přírodních látek, jako např. články^{35–38}.

LITERATURA

- Presl S., Presl B.: *Flora čechica indicatis medicinalibus, oeconomicis technologicisque plantis* = *Květena česká : s poznamenáním lékařských, hospodářských a řemeslnických rostlin*. J. G. Calve, Praha 1819.
- European Pharmacopoeia Commission: *European Pharmacopoeia* (Ph. Eur.) 11. Deutscher Apotheker Verlag Dr. Roland Schmiedel GmbH & Co. KG, Stuttgart 2022.
- Český lékopis, příloha k vyhlášce č. 1/1998 Sb.
- Hansaman L. (ed.): *Negnowěgssj moravsko-slezský Domácí Přítel Wsseužitečný občanský kalendář na rok obyčejný 1854*, číslo 1 str. 54. Winikr K., Brno 1854.
- Berchtold B. V., Presl J. S.: *O přirozenosti rostlin aneb rostlinář, ustanovený pro lékaře, hogiče, hospodáře, umělce, řemeslníky a vychowatele*. Jan Sw. Presl, Praha 1823.
- <https://www.britishmuseum.org/collection/term/BIOG186029>, staženo 4. 8. 2025.
- French School: *Gentiana lutea, Grande Gentiane*, v knize: *Collection of Botanical Studies*, ca 1820. Originál Oak Spring Garden Foundation Library, Upperville, Virginia.
- Step E.: *Favourite Flowers of Garden and Greenhouse*, Edward Step Artwork, London 1897.
- Howard, Lady F.: *A catalogue of English plants drawn after nature by Lady Frances Howard*, 1766, Originál Oak Spring Garden Foundation Library, Upperville, Virginia.
- Von Hagen K. B., Kadereit J. W.: *Org. Divers. Evol.* 1, 61 (2001).
- Jurášek M., Opletal L., Drašar P.: *Chem. Listy* 115, 458 (2021).
- Tasić S., Šavikin-Fodulović K., Menković N.: *Gentiana lutea*, v knize: *Guide through medicinal plants*. World Agency “Valjevac”, Valjevo, Serbia 2004.
- Shaidullova O. V.: RU2545389 C1 (2015).
- Camper E.: <https://www.alcoholprofessor.com/blog-posts/bitter-botanicals-gentian>, staženo 2. 8. 2025.
- Presl J. S.: *Jana Swatopluka Presla Wšeobecný rostlinopis, čili, Popsání rostlin we všelikém ohledu užitečných a škodlivých*, díl 2., str. 68. Kronberger a Řivnác, Praha 1846.
- Opletal L., Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Drašar P.: *Chem. Listy* 101, 895 (2007).
- Choubey P., Sharma V., Joshi R., Upadhyaya A., Kumar D., Patial V.: *J. Ethnopharmacol.* 325, 117866 (2024).
- Li X., Zhang Y., Jin Q., Xia K.-L., Jiang M., Cui B.-W., Wu Y.-L., Song S.-Z., Lian L.-H., Nan J.-X.: *Brit. J. Pharmacol.* 175, 1451 (2018).
- Wagner H., Bladt C., Zgainski E. M., v knize: *Plant drug Analysis*, str. 125. Springer, Berlin 1983.
- Evans W. C., Evans D.: *Chapter 24 - Miscellaneous isoprenoids*, v knize: *Trease and Evans' Pharmacognosy*, 16. vyd., str. 333–346. Elsevier, Saunders 2009.
- <https://www.pharma4u.de/pta/datenbanken/arzneipflanzen/detail/gentianae-radix/>, staženo 1. 8. 2025.
- Wichtl M. (ed.), Blaschek W. (ed.): *Wichtl – Teedrogen und Phytopharmaka Ein Handbuch für die Praxis*, 6. vyd. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 2016.
- http://www.pharmakobotanik.de/systematik/6_droge/gentia-r.htm, staženo 1. 8. 2025.
- Antoniadi L., Bartnik M., Angelis A., Wawruszak A., Halabalaki M., Kukula-Koch W., Skaltsounis L. A.: *Cells* 13, 70 (2024).
- von Kostanecki S., Tambor J.: *Monatsh. Chem.* 15, 1 (1894).
- Buchwald W., Mikołajczak P. Ł.: *Gentianae radix*

- (Chapter 17), v knize: *The Gentianaceae – Volume 2: Biotechnology and Applications* (Rybczyński J. J., Davey M. R., Mikula A., ed.). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 2015.
27. Wani B. A., Ramamoorthy D., Rather M. A., Arumugam N., Qazi A. K., Majeed R., Hamid A., Ganie S. A., Ganai B. A., Anand R., Gupta A. P.: *Phytomedicine* 20, 723 (2013).
 28. Wisdom Library, <https://www.wisdomlib.org/definition/trayamana>, staženo 5. 8. 2025.
 29. Liu C., Song X., Sun Y., Li Y., Li X., Zhang D.: *Nat. Prod. Res.* 38, 4446 (2024).
 30. Chinese Pharmacopoeia Commission: *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, díl 1, 282 (2020).
 31. Fukuchi-Mizutani M., Okuhara H., Fukui Y., Nakao M., Katsumoto Y., Yonekura-Sakakibara K., Kusumi T., Hase T., Tanaka Y.: *Plant Physiol.* 132, 1652 (2003).
 32. Yoshida K., Kondo T., Goto T.: *Tetrahedron* 48, 4313 (1992).
 33. Ji J., Wang G., Wang J., Wang P.: *Biotechnol. Lett.* 31, 305 (2009).
 34. Diretto G., Jin X., Capell T., Zhu C., Gomez-Gomez L.: *PLoS One* 14, e0212062 (2019).
 35. Podskalská T., Říhová K., Kružík V., Škorpilová T., Smutná V., Potančoková J., Čížková H.: *Chem. Listy* 117, 23 (2023).
 36. Jurášek M., Drašar P.: *Chem. Listy* 117, 278 (2023).
 37. Grbavčić M., Jurášek M., Drašar P.: *Chem. Listy* 118, 448 (2024).
 38. Šárka E., Caltová K., Smrčková P., Bleha R., Marek I., Fila V., Lhotka M.: *Chem. Listy* 117, 196 (2023).

M. Jurášek and P. Drašar (*Department of Chemistry of Natural Substances, University of Chemical Technology, Prague, Czech Republic*): **On Bitter Gentian and Bitter Gentianella**

The article provides basic information about biologically active substances from gentians in traditional and contemporary healing practice and about the use of gentian in Eastern medicine, and also provides information about the intensity of bitterness of some of the compounds contained.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: gentian, dwarf gentian, *gentiana*, *gentianella*, TCM, ayurveda



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoli média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.

AUTORSKÝ REJSTŘÍK

Bejček, Jiří	1
Bencko, Vladimír	10
Benešová, Eva	23
Cabalka, Josef	131
Cvak, Ladislav	188, 216
Cyprichová, Veronika	99
Černá, Lucie	139
Čížková, Helena	156
Drašar, Pavel	36, 41, 50, 74, 78, 89, 106, 109, 113, 125, 131, 135, 147, 182, 195, 198, 201, 223, 233, 239, 245
Fišnar, Jakub	83
Flegel, Martin	57, 65
Hajšlová, Jana	46
Harmatha, Juraj	50
Holíčková, Mária	99
Horsáková, Iveta	156
Hroboňová, Katarína	117
Hronská, Helena	93
Hůrková, Kamila	46
Husáková, Markéta	31
Jiráček, Jiří	172
Jurášek, Michal	36, 41, 50, 74, 78, 89, 106, 109, 113, 125, 131, 147, 195 198, 223, 233, 239, 245
Kafková, Valentína	99
Kaniaková, Katarína	93
Kmoníčková, Eva	1, 36
Kozler, Josef	135
Krečmerová, Marcela	162
Kromerová, Katarína	10
Kružík, Vojtěch	156
Lener, Tomáš	207
Lipovová, Petra	23
Loučková, Anna	46
Lovecká, Petra	139
Massyagutova, Angelina	139
Nesměrák, Karel	207
Neumannová, Helena	156
Ondřejíčková, Petra	99
Opletal, Lubomír	36, 41, 50, 109, 125, 147, 233
Paleta, Oldřich	135
Pařízek, Antonín	57, 65
Perlíková, Pavla	16
Pliska, Vladimír	57, 65
Přerovská, Tereza	23
Réblová, Zuzana	83
Rimpelová, Silvie	1
Rosenberg, Michal	92
Ruml, Tomáš	1
Rybka, Adolf	109
Sláma, Karel	50
Spiwok, Vojtěch	1
Stárka, Luboslav	74
Šilhárová, Dominika	92
Šístková, Iveta	156
Turnovská, Tereza	172
Výbohová, Veronika	117
Wimmer, Zdeněk	139
Žáková, Lenka	172

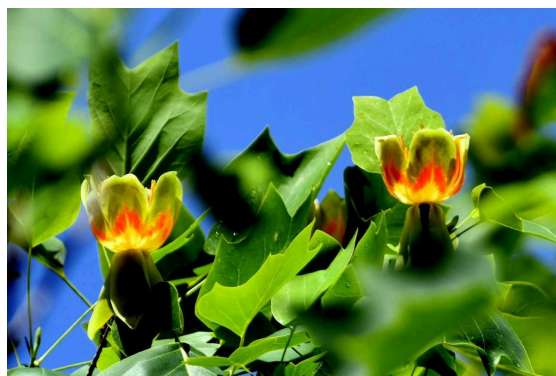


Foto Zdeněk Putz

