

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

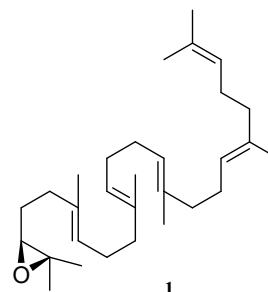
1. Úvod
2. Syntéza derivátů
3. Biologické aktivity
4. Závěr

1. Úvod

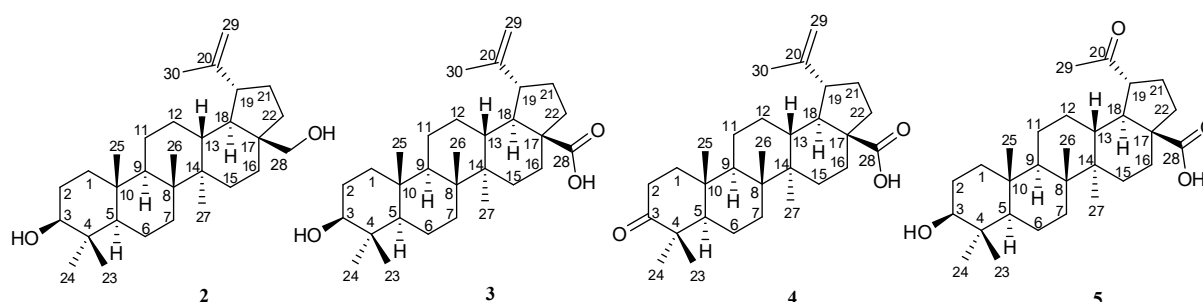
Rostliny představují rozmanitý a bohatý zdroj biologicky aktivních látek¹. Léčivé rostliny byly používány již v historii v tradiční humánní medicíně². Hlavní výhodou je, že rostliny jsou snadno dostupnými zdroji³. Příkladem může být skupina rostlinných triterpenoidů, syntetizovaná rostlinami v podobě 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,

korok, 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)

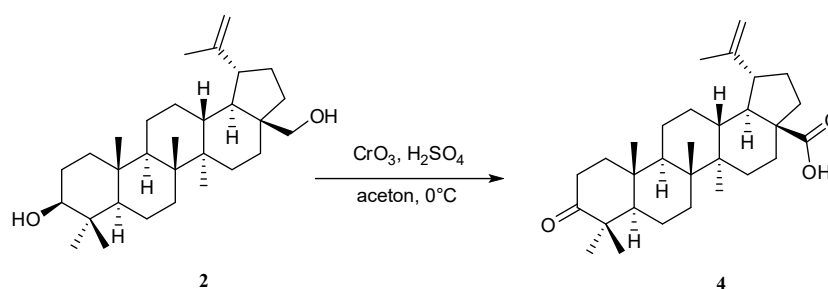


Schéma 1. Jonesova oxidace betulinu (2) na betulonovou kyselinu (4)

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 strukturálně rozmanitých derivátů¹¹. Komplexace s cyklodextrinem 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 strukturálních motivů¹. Zavedením piperazinylové skupiny do triterpenoidních struktur dochází ke zvýšení biologických aktivit (protinádorové, antimikrobiální, antivirové, antimalarické, aj.)¹¹. Deriváty mohou být strukturálně 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 aminokyseliny 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).

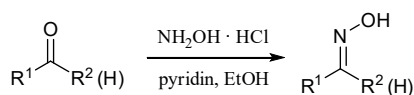


Schéma 2. Syntéza oximových derivátů (R¹ a R² – různé substituenty)

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 betulonové 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 betulonová, 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 indukci apoptózy⁶. Antihyperlipidemická aktivita byla sledována u betulonové kyseliny při testování na oběžných myších¹. Betulin a betulonová kyselina zvyšují absorpci glukosy, zvyšují sekreci inzulinu, zvyšují vychytávání glukosy v periferních orgánech a pomáhají tak v léčbě diabetu. Stejně jako betulin, betulonová kyselina snižovala hladinu glukosy v krvi, plazmatické triglyceridy a hladiny celkového cholesterolu v myším modelu krmeném stravou s vysokým podílem tuku. U kyseliny betulonové 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 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

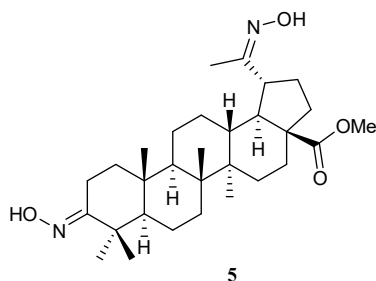
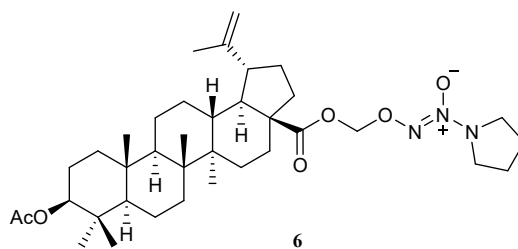
a platanové kyseliny je popsána zejména účinnost proti grampozitivním bakteriím v porovnání s gramnegativními, a to s největší citlivostí vůči bakteriím *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus faecalis*^{29–31}. Výzkum Kazakové a spol.³¹ ukázal, že betulonová kyselina v koncentracích do 80 mg ml⁻¹ snížila 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). Poumle 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-bisoximoplatanoát (**5**, obr. 3) vykazuje antivirové účinky proti HSV-1 a HPV-11 s EC₅₀ > 1,20 μM a 3,47 μM (cit.⁷).

U betulonové 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**)

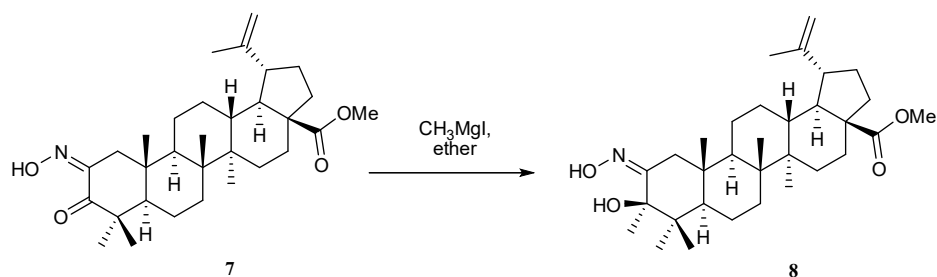
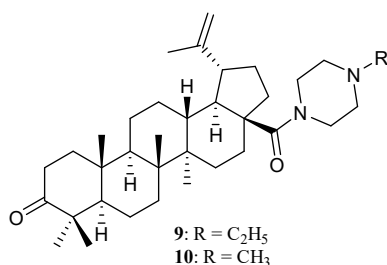


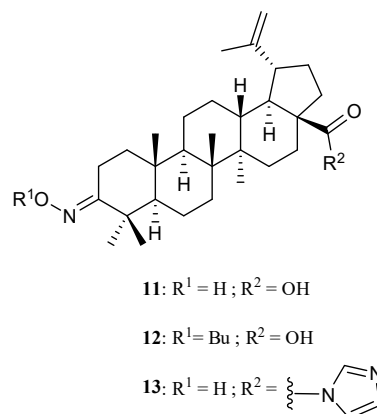
Schéma 3. Syntéza cytotoxicky aktivního C-2-oximového derivátu betulonové kyseliny (8)

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 (buněkám 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*-Ethylpiperaza-

Obr. 5. *N*-ethylpiperazinylamid (9) a *N*-methylpiperazinylamid (10) betulonové kyseliny

zinylamid 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'-deoxythymín-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. 6. Oximové deriváty betulonové kyseliny

kyseliny (**11**) má silné účinky na buněčnou linii A2780, použije-li se ve vyšší dávce, přičemž nejsilnější aktivitu projevoval 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, vaječnicků, 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 vaječnicků A2780 s EC₅₀ = 9,14 μM (cit.⁷). Zavedení oximu do pozice C-20 vede k mírným protinádorovým účinkům, přičemž konfigurace oximů nemá vliv na hodnoty EC₅₀. 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 zkratek

A549	lidská buněčná linie karcinomu plic
A2780	lidská buněčná linie karcinomu vaječnicků
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. Compd.* **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., Alakurtti 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., Alakurtti 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 jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.