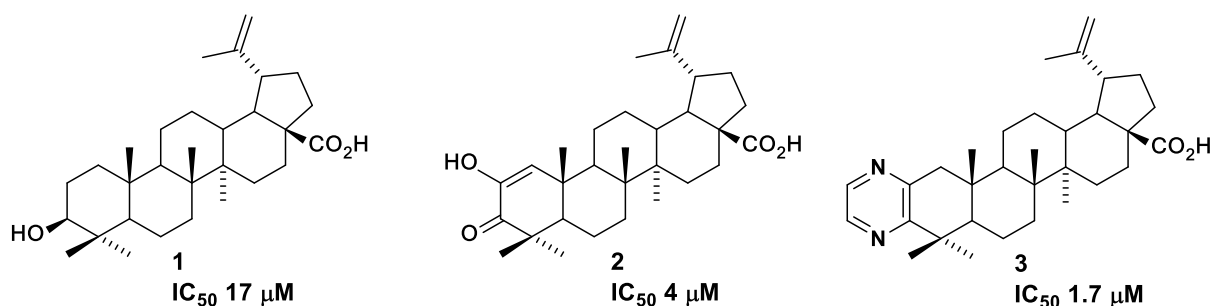


Příprava konjugátů triterpenů v oblasti kruhu E a A a studium jejich biologických aktivit.

Triterpeny jsou přírodní sloučeniny disponující řadou biologických aktivit,¹ na našem pracovišti se zabýváme zejména sloučeninami s aktivitou cytotoxickou a s tím související protinádorovou. Nejaktivnější deriváty mají IC_{50} v hodnotách nízko mikromolárních až submikromolárních² což v souvislosti s nízkou toxicitou by tyto molekuly předurčovalo k tomu stát se protinádorovými terapeutiky. Vysokou cytotoxickou aktivitou disponují zejména deriváty lupanu (**Obr. 1**) a proto jim je věnována zvláště vysoká pozornost. Problémem aktivních triterpenů je však vysoká lipofilita, nízká rozpustnost ve vodě a s tím spojená nedostatečná biodostupnost při perorálním podání. Jednou z možností, jak tyto nevhodné vlastnosti upravit, je příprava prodrugs. Přes velké úsilí o nalezení optimálních prodrug jsou výsledky tohoto výzkumu dosud spíše dílčí.³

V rámci této práce budou vyvíjeny postupy na spojování aktivních triterpenů, např. kyseliny betulínové (**1**),⁴ diosfenolu **2**,⁴ pyrazinu **3**⁵ nebo dalších terpenů s molekulami, které by mohly zlepšit rozpustnost aktivních triterpenů ve vodném prostředí a nebo s molekulami, které by mohly ještě zlepšit IC_{50} a selektivitu vůči nádorovým buňkám.



Obrázek 1. Příklady cytotoxicky aktivních derivátů lupanu, které budou modifikovány.

Prvním postupem (**Schéma 1**) bude zavedení modifikující molekuly do polohy 30 prostřednictvím cykloadičních reakcí. Nejdříve bude triterpen modifikován propargylovou skupinou za použití různého typu spojení (přes sekundární amin, amid nebo ester) a pak bude reakcí s azidem příslušné modifikující molekuly připraven odpovídající konjugát. V současnosti je tento projekt rozpracován pro amid a ester s velmi omezeným počtem modifikujících molekul, sekundární amin se připravit nepodařilo. V rámci této dizertační práce bude projekt výrazně rozšířen o řadu polárních molekul a také o aminový linker. Kromě polárních molekul budou s triterpeny spojeny i molekuly, které samy disponují významnými cytotoxickými aktivitami. Bude studována stabilita linkeru v biologickém prostředí. Předpokládáme, že zatímco amin a amid by mohly být stabilní, ester by mohl podléhat štěpení nespécifickými esterasami. To by mohlo vést k molekule konjugátu, který se dostane do cílových nádorových buněk, tam se rozštěpí a každá složka začne působit jiným mechanismem účinku. Tímto postupem je pravděpodobně možné potlačit vznik rezistencí.

Druhým postupem bude obdobná derivatizace polohy 30 s tím, že nová molekula bude spojena s terpenem C-C vazbou. Tím bude zcela jistě stabilní v biologickém prostředí, modifikující molekula se stane součástí triterpenu a nebude fungovat jako prodrug. Pro vznik C-C vazeb budou použity reakce katalyzované přechodnými kovy, například crosscouplingy nebo metathese, případně Wittigova reakce (**Schéma 2**). Z prvních experimentů víme, že dvojná vazba 20(29) nepodléhá metathesím, nejspíše ze sterických důvodů a stejné problémy očekáváme i u crosscouplingů. Pokud se to potvrdí, bude nejdříve pomocí Wittigovy reakce připraven derivát s dvojnou vazbou ve větší vzdálenosti od triterpenoidního skeletu. Z práce⁶ víme, že Wittigova reakce v poloze 20 nebo 30 probíhá dobře.

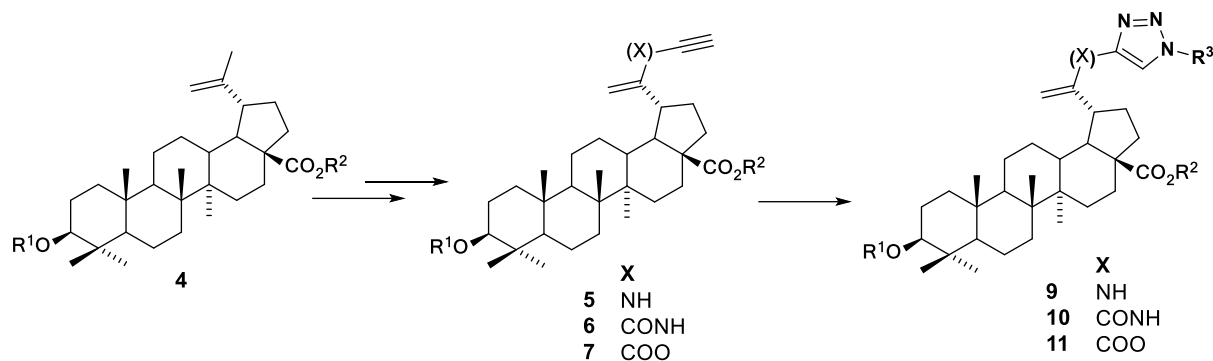


Schéma 1. První cesta ke konjugátům triterpenů s různě stabilním linkerem.

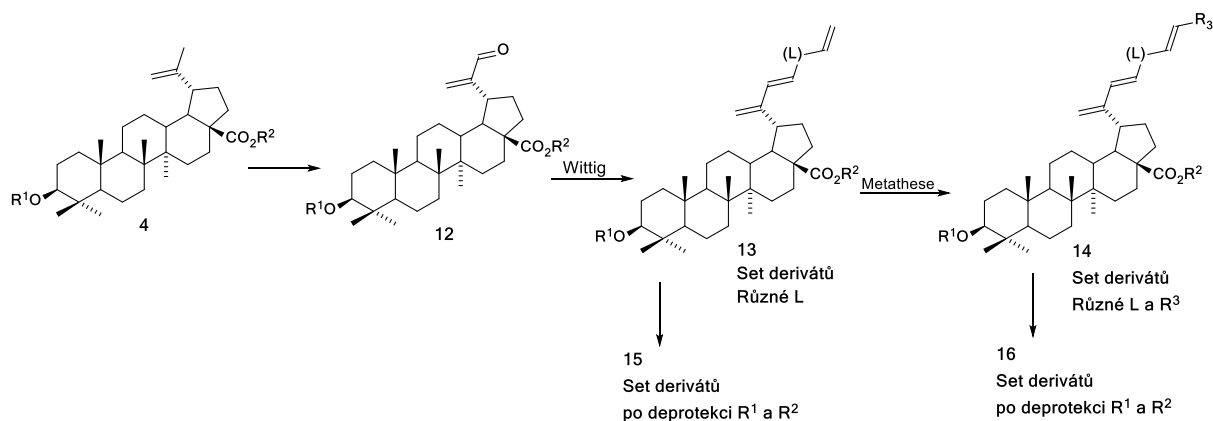


Schéma 2. Cesta ke konjugátům triterpenů se stabilním linkerem.

Výše uvedenými způsoby bude připraveno několik sérií derivátů, které budou plně charakterizovány a testovány na jejich cytotoxickou aktivitu. Z výsledků by mělo být patrné, jaký vliv mají jednotlivé modifikující molekuly a také typ linkeru na aktivitu a farmakologické vlastnosti, zejména biodostupnost a metabolismus. Práce by měla ukázat, který typ linkeru je nejlepší, který je vhodný pro přípravu prodrug a který naopak pro konjugáty s dvojitým mechanismem účinku. To vše bude následně použito pro syntézu větších knihoven derivátů.

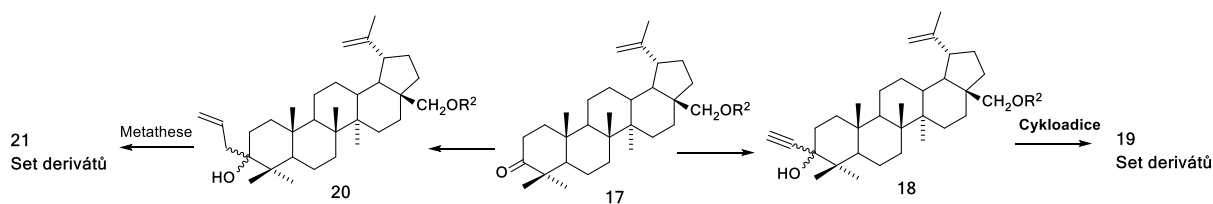


Schéma 3. Alternativní vznik konjugátů – modifikace kruhu A.

Obdobným způsobem může být postupováno také v kruhu A, například propargylový substituent nebo vinylový substituent lze snadno zavést do polohy 2 nebo 3 reakcí 2-oxo nebo 3-oxoderivátů s příslušným Grignardovým činidlem (**Schéma 3**).

Literatura:

1. Dzubak P., Hajduch M., Vydra D., Hustova A., Kvasnica M., Biedermann D., Markova L., Urban M., Sarek J.: Pharmacological activities of natural triterpenoids and their pharmacological implications; *Nat. Prod. Rep.* **2006**, 23, 394 - 411.

2. Kvasnica M., Urban M., Dickinson N. J., Sarek J.: Pentacyclic triterpenoids with nitrogen and sulfur containing heterocycles: Synthesis and medicinal significance; *Nat. Prod. Rep.* **2015**, *32*, 1303 - 1330.
3. Biologically active terpenoids usable as prodrugs. Urban, M.; Kvasnica, M.; Dickinson, N. J.; Sarek, J.: pp 25 – 49. In *Terpenoids and squalene – biosynthesis, functions, and health implications*, edited by Alanna R. Bates, Nova Science Publishers, Inc., New York, USA, **2015**.
4. Urban M., Sarek J., Klinot J., Korinkova G., Hajduch M.: Synthesis of A-secoderivatives of betulinic acid with cytotoxic activity; *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1100 - 1105.
5. Urban M., Sarek J., Kvasnica M., Tislerova I., Hajduch M.: Triterpenoid pyrazines and benzopyrazines with cytotoxic activity; *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 526 - 532.
6. Vlk M., Urban M., Elbert T., Sarek J.: Synthesis of selectively deuterated and tritiated lupane derivatives with cytotoxic activity; *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2013**, *298*, 1149 - 1157.
7. Ngoc T. D.; Dissertation Thesis, Catholic University Leuven, **2014**.