

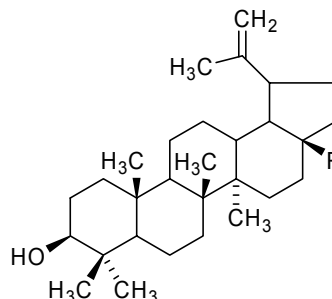
## KYSELINA BETULINOVÁ: PERSPEKTIVNÍ CYTOSTATIKUM

JIŘÍ PATOČKA<sup>a</sup> a MARIE STIBOROVÁ<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Katedra toxikologie, Vojenská lékařská akademie, Hradec Králové a Katedra radiologie, Zdravotně sociální fakulta, Jihočeská univerzita, České Budějovice, <sup>b</sup> Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta UK, Praha  
patocka@pmfhk.cz; stiborova@natur.cuni.cz

Došlo 4.3.03, přepracováno 18.11.03, přijato 24.1.04.

**Klíčová slova:** pentacyklické triterpeny, betulin, kyselina betulinová, perspektivní kancerostatikum, mechanismus působení, apoptosa, melanom, HIV



kyselina betulinová I, R = COOH  
betulin II, R = CH<sub>2</sub>OH

### 1. Úvod

Triterpeny tvoří početnou skupinu přírodních látek, z nichž nejvýznamnější je skupina tetracyklických derivátů odvozených od lanostanu, cykloartanu, dammaranu, eufanu a protostanu a skupina pentacyklických derivátů odvozených od ursanu, oleananu,  $\beta$ -amyrinu, gammaceranu, lupanu a hopanu. Zájem o tyto látky je mimo jiné podmíněn skutečností, že vykazují pestré spektrum biologických aktivit<sup>1</sup>. Nacházíme mezi nimi velmi často látky s baktericidním, fungicidním i antivirovým účinkem. Mnohé z nich jsou cytotoxické a mohou být využity v medicíně jako kancerostatika, některé ovlivňují kardiovaskulární systém, jiné zase mají protizánětlivý účinek apod. Triterpeny jsou často účinnými principy léčivých čajů a své místo nachází i v moderní medicíně. Takovým příkladem může být i kyselina betulinová, které je věnován tento článek.

### 2. Kyselina betulinová

Kyselina betulinová (3 $\beta$ -hydroxylup-20(29)-en-28-ová, I) je krystalická látka o b.t. 279–284 °C (za rozkladu)<sup>2</sup>, špatně rozpustná v ethanolu a acetonu a nerozpustná ve vodě,  $[\alpha]_D^{20} + 8,4^\circ$  ( $c = 0,83$ , pyridin)<sup>2</sup>. Byla izolována např. z afrického keře *Ziziphus mauritiana* Lam. (*Rhamnaceae*)<sup>3</sup>, je však dostupná i z jiných zdrojů, např. z kůry platanu (*Platanus acerifolia*), která vedle kyseliny platanové obsahuje až 2,4 % kyseliny betulinové<sup>4</sup>. Dostupným a levným zdrojem může být i kůra břízy (*Betula alba*, *B. papyrifera*) obsahující betulin (lup-20(29)-en-3 $\beta$ ,28-diol, II), který lze snadno oxidací<sup>5,6</sup> převést na kyselinu I. Betulin byl jednou z prvních přírodních látek, kterou se podařilo získat z rostlin jako čistou chemickou substanci. Byl izolován Löwitsem v roce 1788 sublimací z březové kůry, kde se nachází v množství od 10 do 30 %. Jeho lupanová struktura byla

objasněna v roce 1952. Později byla látka nalezena v celé řadě dalších rostlin. V současné době je betulin získáván ve velkých množstvích jako vedlejší produkt při zpracování březové kůry a nachází uplatnění v řadě aplikací.

#### 2.1. Kyselina betulinová a apoptóza

Zjištění, že kyselina betulinová vyvolává apoptózu bylo publikováno v roce 1995 (cit.<sup>7</sup>). Jde o typ apoptózy vyvolaný přímým účinkem na mitochondrie<sup>8-10</sup>, nezávisle na akumulaci proteinu p53 a nezávisle na indukovaných systémech ligand/receptor, jako je např. CD95. Účinkem kyseliny betulinové se z mitochondrií uvolňují do cytosolu rozpustné apoptogenní faktory jako je cytochrom c nebo ARF (alternative reading frame), kde aktivují kaspasy<sup>11,12</sup>.

#### 2.2. Toxikologie kyseliny betulinové

Kyseliny betulinová je prakticky netoxická a tím, že nepůsobí na zdravé buňky a apoptózu vyvolává pouze u buněk rakovinných, je považována za bezpečné léčivo.

#### 2.3. Kyselina betulinová a potlačení růstu melanomů

Kyselina betulinová rovněž vykazuje protinádorovou aktivitu. Nejúčinnější je vůči melanomům<sup>13</sup>. Melanomy jsou nejčastějším druhem kožní rakoviny a např. v USA tímto onemocněním trpí každý devadesátý Američan<sup>14</sup>. Ročně je v USA zaznamenáno 800 tisíc nových případů a je to zde nejčastěji se vyskytující druh rakoviny. Podle dosavadních zkušeností je kyselina betulinová selektivním inhibitorem růstu melanomu<sup>15</sup>, ale také neuroektodermálních a maligních mozkových tumorů, aniž je toxická pro zdravé buňky<sup>13</sup>. Také některé deriváty kyseliny betulinové vykazují vysokou účinnost proti melanomu, jako např. konjugáty její karboxy-

lové skupiny s aminokyselinami. Tyto konjugáty jsou lépe rozpustné ve vodě a mají vyšší selektivní cytotoxicitu<sup>16</sup>. Mechanismus působení proti těmto typům rakoviny vyplývá z výše uvedené indukce apoptózy<sup>9,10</sup>. Efektivní je kyselina betulinová i v parciální inhibici promoční fáze karcinogeneze<sup>17</sup>.

#### 2.4. Kyselina betulinová a inhibice HIV

Kyselina betulinová vykazuje také anti-HIV aktivitu<sup>18,19</sup>, podobně jako některé její deriváty, a představuje novou skupinu léčiv AIDS<sup>20-22</sup>. Její antivirový účinek spočívá na schopnosti vyvolávat fúzi virových částic tím, že se váže na virový glykoprotein gp41 (cit.<sup>23</sup>). Kyselina betulinová tak rozšiřuje spektrum současných léčiv AIDS<sup>24</sup>.

#### 2.5. Další možnosti uplatnění kyseliny betulinové

Kyselina betulinová byla testována také jako potenciální antimalarikum. *In vitro* vykazovala inhibiční aktivitu proti kmenům *Plasmodium falciparum* senzitivním na chlorochin (T9-96) i rezistentním (K1), ale aktivita *in vivo* na modelu myši malárie (*P. betghei*) byla nízká<sup>25</sup>. Potenciální využití kyseliny betulinové tkví rovněž v jejím protizánětlivém účinku vyvolaném inhibicí fosfolipasy A (cit.<sup>26</sup>). Protizánětlivý účinek může vyplývat i z inhibice cyklooxygenasy 1 a 2 (cit.<sup>27</sup>).

### 3. Závěr

Předkládaný článek stručně informuje o farmakologických aktivitách přírodního triterpenu kyseliny betulinové a ukazuje, že tato sloučenina je potenciálně velmi vhodným agens k terapii dvou typů často se vyskytujících nádorových onemocnění, maligních melanomů a nádorů mozku. Vzhledem k tomu, že prakticky nevykazuje žádné vedlejší toxické účinky, je uvedená sloučenina vysoce slibná pro klinické použití v humánní medicíně. Vedle potenciálního terapeutického využití, může být použita i k základnímu výzkumu v laboratořích studujících mechanismus apoptózy, jako modelová sloučenina indukující tento proces přímým vlivem na mitochondrie. Pro chemické laboratoře je kyselina betulinová cenným zdrojem inspirace vývoje nových farmakologicky účinných sloučenin na bázi terpenů.

#### LITERATURA

- Patočka J.: *J. Appl. Biomed.* 1, 7 (2003).
- Seidel V., Bailleul F., Waterman P. G.: *Phytochemistry* 55, 439 (2000).
- Simonsen J., Ross W. C. J.(Eds.): *The Terpenes, sv. V*, str. 316. Cambridge Univ. Press, 1957.
- Dräger B., Galgon T., Neubert R., Wohlrab W.: *Ger. Offen.* DE 19,713,768; *US Patent* 6,175,035, 2001.
- Kim D. S. H. L., Chen Z. D., Nguyen V. T., Pezzuto J. M., Qiu S. X., Lu Z. Z.: *Synth. Commun.* 27, 1607 (1997).
- Son L. B., Kaplun A. P., Spilevskii A. A., Andia-Pravdivyi Iu. E., Alekseeva S. G., Gribor'ev V. B., Shvets V. I.: *Bioorg. Khim.* 24, 7 (1998).
- Pisha E., Chai H., Lee I. S., Chagwedera T. E., Farnsworth N. R., Cordell G. A., Beecher C. W., Fong H. H., Kinghorn A. D., Brown D. M., Wani M. C., Wall M. E., Hieken T. J., Dasgupta T. K., Pezzuto J. M.: *Nat. Med.* 1, 1046 (1995).
- Fulda S., Debatin K. M.: *Med. Pediatr. Oncol.* 35, 616 (2000).
- Marchetti P., Mortier L., Beauvillain V., Formstecher P.: *Ann. Biol. Clin.* 60, 391 (2002).
- Kwon H. J., Shim J. S., Kim J. H., Cho H. Y., Yum Y. N., Kim S. H., Yu J.: *Jpn. J. Cancer Res.* 93, 417 (2002).
- Fulda S., Friesen C., Los M., Scaffidi C., Mier W., Benedict M., Nunez G., Krammer P. H., Peter M. E., Debatin K. M.: *Cancer Res.* 57, 4956 (1997).
- Raisova M., Hossini A. M., Eberle J., Riebeling C., Wieder T., Sturm I., Daniel P. T., Orfanos C. E., Geilen C. C.: *J. Invest. Dermatol.* 117, 333 (2001).
- Zuco V., Supino R., Righetti S. C., Cleris L., Marchesi E., Gambacorti-Passerini C., Formelli F.: *Cancer Lett.* 175, 17 (2002).
- Martinez J. C., Otley C. C.: *Mayo Clin. Proc.* 76, 1253 (2001).
- Salti G. I., Kichina J. V., Das Gupta T. K., Uddin S., Bratescu L., Pezzuro J. M., Mehta R. G., Constantinou A. L.: *Melanoma Res.* 11, 99 (2001).
- Jeong H. J., Chai H. B., Park S. Y., Kim D. S.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9, 1201 (1999).
- Akihisa T., Takamine Y., Yoshizumi K., Tokuda H., Kimura Y., Ukiya M., Nakahara T., Yokochi T., Ichiishi E., Nishino H.: *J. Nat. Prod.* 65, 278 (2002).
- Fujioka T., Kashiwada Y., Kilkuskie R. E., Cosentino L. M., Ballas L. M., Jiang J. B., Janzen W. P., Chen I. S., Lee K. H.: *J. Nat. Prod.* 57, 243 (1994).
- Kashiwada Y., Hashimoto F., Cosentino L. M., Chen C. H., Garrett P. E., Lee K. H.: *J. Med. Chem.* 39, 1016 (1996).
- Evers M., Poujade C., Soler F., Ribeill Y., James C., Lelievre Y., Gueguen J. C., Reisdorf D., Morize I., Pauwels R., De Clercq E., Henin Y.: *J. Med. Chem.* 39, 1054 (1996).
- Hashimoto F., Kashiwada Y., Cosentino L. M., Chen C. H., Garrett P. E., Lee K. H.: *Bioorg. Med. Chem.* 5, 2133 (1997).
- De Clercq E.: *Rev. Med. Virol.* 10, 255 (2000).
- Holz-Smith S. L., Sun I. C., Jin L., Matthews T. J., Lee K. H., Chen C. H.: *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 60 (2001).
- De Clercq E.: *Curr. Med. Chem.* 8, 1543 (2001).
- Steele J. C., Warhurst D. C., Kirby G. C., Simmonds M. S.: *Phytother. Res.* 13, 115 (1999).
- Bernard P., Scile T., Didier B., Hibert M., Berthon J. Z.: *Phytochemistry* 58, 865 (2001).

27. Su B. N., Cuender M., Farnsworth N. R., Fong H. H. S., Pezzuto J. M., Kinghorn A. D.: *Planta Med.* 68, 1125 (2002).

**J. Patočka<sup>a</sup> and M. Stiborová<sup>b</sup>** (<sup>a</sup>*Department of Toxicology, Military Medical Academy, Hradec Králové and Department of Radiology, Faculty of Health and Social Care, University of South Bohemia, České Budějovice,* <sup>b</sup>*Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Betulinic Acid: Prospective Cytostatic Agent**

Betulinic acid, a pentacyclic triterpene of the lupane type, is a cytotoxic agent for malignant melanoma. It was identified as a selective inhibitor of melanoma inducing apoptosis by a direct effect on mitochondria independent of accumulation of wild-type p53 protein and independent of death-inducing ligand/receptor systems such as CD95. Mitochondrial perturbations on treatment with betulinic acid resulted in the release of soluble apoptogenic factors such as cytochrome c or alternative reading frame from mitochondria into cytosol, where they induced activation of caspases. Betulinic acid may be a promising new agent in the treatment of neuroectodermal tumors including neuroblastoma.

---

---

MEZINÁRODNÍ SLOVENSKÝ A ČESKÝ  
KALORIMETRICKÝ SEMINÁŘ 2004

*Seminář se koná v termínu od 24. května – 28. května 2004 v areálu hotelu Repiská, Demänovská dolina. Akci pořádá Česká společnost chemická – OS pro termodynamiku za bezprostřední spolupráci „Hornonitrianské bane Prievidza, a.s., Bana Nováky“.*

Bližší informace na [www.icpf.cas.cz/ehlt/oscht/](http://www.icpf.cas.cz/ehlt/oscht/) nebo přímo podá

**prof. Ing. Boleslav Taraba, CSc.**

Ostravská univerzita, Katedra chemie

30. dubna 22

701 03 Ostrava 1

tel: 596 160 246

e-mail: [Boleslav.taraba@osu.cz](mailto:Boleslav.taraba@osu.cz)