

## PRVNÍ PŮLSTOLETÍ STEROIDNÍ CHEMIE

ALEXANDER KASAL a HANA CHODOUNSKÁ

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

Došlo 23.10.13, přijato 31.10.13.

### Obsah

1. Šormova epocha
2. Steroidy v době normalizace
3. Steroidy po pádu komunismu
4. Současnost steroidů – Amazonky

### 1. Šormova epocha

Historický pohled na oddělení steroidní chemie musíme zahájit vymezením pojmu: když zakladatel oddělení – Ing. Dr. Václav Černý, DrSc. vytvořil první steroidní tým na akademii, nemluvilo se o oddělení, ale o „sektoru“. Později se objevil pojem skupina a až nakonec oddělení. Po roce 1989 uvažovala vědecká rada o možnostech úspor a tehdy se ujal návrh Ing. Michala Lébla, DrSc. zviditelnit hospodárnost jednotlivých oddělení, která byla přejmenována na „vědecko-ekonomické jednotky“ (VEJ). Tehdy začala éra pokusů o vyjádření ceny jednotlivých vědeckých publikací.

Obsazení budovy a vytvoření Ústředního ústavu chemického v roce 1950 mělo ve vyprávění jeho účastníků charakter téměř vojenský: lidé kolem prof. Ing. Vlastimila Herouta, DrSc. dobyli strategicky výhodné přízemí v čele budovy. Václav Černý a spol. pak čestně uhájili prostory směřující do dvora a utěšovali se tím, že jim letní žár chromatografické sloupce netrhal.

V lednu 1953 byl Ústřední ústav chemický zařazen do vznikající ČSAV jako Ústav organické chemie. I toto jméno se po sedmi letech změnilo na současný Ústav organické chemie a biochemie. Třikrát a dost, a tak už v dalších letech ke změně názvu nedocházelo, ač změna obsahu byla někdy až revoluční. Veřejnost si na tento dlouhý název zvykla, kolegové z jiných ústavů mluvili o našem ústavu jako o „vochabu“, v čemž se možná projevovala nejen rivalita, ale i závist. Ředitel ústavu – prof. František Šorm – dokázal svému ústavu leccos vydobýt, už např. jedna volná sobota v měsíci byla kdysi velkým ústupkem státní byrokracie.

Zřízení lékařské a později i zubní ordinace v budově ústavu bylo diktováno snahou o ekonomii pracovního času a jistě dalo dost práce. Ředitel obecně dbal na dodržování pracovní doby a tak náš ústav údajně získal i další přezdívku – kartouza šormská.

V době zavřených hranic neměl ÚOCHB konkurenci a mládí nastupující do ústavu to vědělo. Den začínal a končil píchačkami a bylo záhodno být aspoň jednou týdně přistižen akademikem v laboratoři v deset hodin večer. Mládí je samozřejmě vždy tvořivé. Když tehdy akademik v noci nakoukl do laboratoře, zeptal se obvykle: Jste tu sám? Pokud dotázaný dostatečně věrohodně zalhal, že vedle je ještě ten a ten kolega, měli oba na ten týden tak říkajíc splněný plán.

V této situaci zařadit výjezd početné skupiny „terpenářů“ na konferenci do Paříže bylo opravdovým oříškem a už už se zdálo, že se to řediteli povedlo. Abstrakty přednášek byly odeslány, program zasedání hotov, ale nakonec přišel zákaz a na konferenci směl vyjet jen ředitel. Ten zůstal solidární a do Paříže nejel. Mezi účastníky se pak vžil pozdrav: „Tak co, Paříž, paříš?“, který býval odbyt tradičním „pařil bych, pařil, kdyby mě ty ... pustily.“

Steroidní tým míval vynikající pověst. Za první steroidní práci považujeme publikaci autorů F. Šorma a H. Dykové „On B-norcholesterol“ (Coll. Czech. Chem. Commun. 13, 407 (1948)), vytvořenou ale ještě na dnešní VŠCHT. O mezinárodním uznání týmu svědčí i to, že když prof. Carl Djerassi chystal dodnes užívanou monografii *Steroid Reactions* (Holden-Day, 1963), byl náš *Collection* jedním ze sedmi časopisů, z nichž jeho studenti měli čerpat příklady steroidních reakcí.

Prof. Šorm nebyl jen autorem první steroidní publikace zdejšího týmu. On definoval pro celý tým základní postoj k práci. Mnozí naši současníci se domnívají, že provozování vědy je svobodné povolání, jehož nejvlastnějším cílem je demonstrovat autorovu výjimečnost. Šorm cítil, že i vědecká práce je službou, byť její výsledky nemusí být bezprostředně zřejmé. V oblasti chemie steroidů třeba cítil, jak bylo naše zdravotnictví závislé na embargovaných výchozích surovinách. Vladimír Páral o něm píše jako o akademikovi v knize „Mladý muž a bílá velryba“ a zmiňuje osobní účast jeho i kolegyně Dykové (Edita) na zavádění průmyslové izolace cholesterolu. Z levného cholesterolu toužil nalézt cestu k dalším steroidním prekurzorům. Tehdy dostupná metoda degradace postranního řetězce oxidací oxidem chromovým poskytovala jen 4 až 6% výtěžky žádaného meziprojektu dehydroepiandrosteronu. Úkol nakonec vyřešil ve spřízněném Výzkumném ústavu přírodních látek, jeden z aspirantů Václava Černého, Dr. V. Schwarz, PhD. Podářilo se mu vypracovat podmínky mikrobiální degradace postranního řetězce cholesterolu i směsí dalších sterolů mutantem druhu *Mycobacterium*, ale místo slávy ho čekala krutá sprcha: státní plánovací komise pod tlakem vyšších sil úkol zrušila a problém byl i s materiálním zajištěním přesunut do jiné země sovětského bloku.

Otázka steroidních surovin trápila prof. Šorma i v další oblasti: ve světě byla rozpoznána terapeutická užitečnost 18-substituovaných kortikoidů, jako byl aldosteron. Všechny steroidní školy se pustily do soutěže a každá jiným způsobem. Šorm, jako odborník ceněný za přínos v oblasti přírodních látek, se rozhodl využít pro jejich výrobu alkaloidy z indické rostliny *Holarrhena antidysenterica*, francouzská škola plánovala využití žlučových kyselin, německá rozpracovala totální syntézy.

Šorm nebyl žádný troškař a tak jednoho dne do Prahy dorazila zásilka 800 kg sušené kůry indické Holarrheny, z níž jsme izolovali 5 kg krystalického konessinu a kilogram holarrhiminu. Švýcarská škola hodlala využít zcela novou chemickou disciplínu – fotochemii, ale nakonec to byl Sir Derek Barton, který svou fotolýzou 11 $\beta$ -nitritů porazil všechny. Na jedné konferenci byl oceněn bonmot, že Bartonova fotochemická reakce dala steroidní chemii dalších deset let na výsluní.

I za Šorma jsme cítili tlak na získání praktických výsledků. Ten vedl podle tehdy módní praxe k založení „brigády socialistické práce“, která měla zavést do výroby feromon kance (5 $\alpha$ -androst-2-en-17-on). Dva pracovníci týmu ztratili asi rok své vědecké kariéry optimalizací přípravy, předváděním této přípravy kolegům z firmy Galea\*, sepisováním zpráv o aktivitě brigády atd. Výroba feromonu pro použití ve velkochovu prasnic byla ale na konec ze státního plánu stejně odstraněna. Oficiálním důvodem bylo údajné ohrožení tak potřebného exportu zamořením výrobní linky, skutečným důvodem bylo to, že to lidem ve výrobě překvapivě smrdělo. Ke zrušení možná přispěla aféra s poškozením zdraví: jeden ze zaměstnanců ve výrobě neporozuměl zcela mechanismu očekávaného účinku feromonu a tak si onen nešťastník nastříkal jeho roztok v 96% ethanolu přímo na penis.

Svého času býval odkaz na tradici vítaným bonbonkem. Při přednáškách v cizině jsme vysvětlovali, proč stále ještě pracujeme se steroidy. Posluchači kvitovali s povděkem, že to přeci bylo v Praze, kde v roce 1888 Friedrich Reinitzer stanovil správné složení cholesterolu na základě elementární analýzy řady svých precizně přečištěných derivátů<sup>1</sup>. Nevěděl, chudák, nic o impact faktorech, publikoval v lokálním rakouskouherském časopise *Monatshefte für Chemie*, a tak byl jeho nálezný nějakou dobu přehlížen mnohem slavnějšími, byť neúspěšnými konkurenty, ale nakonec se do učebnic stejně dostal<sup>2</sup>.

Později jsme vídali ve filmech agenta 007 a v jeho chování jsme poznávali svého šéfa. Tak jako James Bond do telefonu jen zavrčel své „Bond, James Bond“, tak i prof. Šorm vstupoval do telefonického jednání s kolegy svým stručným „Šorm“. Když se nám třeba v laboratoři urodila sloučenina, o níž šéf předpokládal, že by mohla být fyziologicky užitečná, stačil telefon a spřízněný ústav už pospíchal, aby ověřil její aktivitu.

Nemohli jsme ovšem tenkrát očekávat, že by hvězdnou kariéru našeho Jamese Bonda náhle přerušila nevidaná válka, v níž by pět spojenců přepadlo šestého! Poslanec Šorm byl jedním z mála, kteří v památném zasedání hlasovali proti dočasnému umístění sovětských vojsk na našem území. Pojem *dočasný* rychle získal nový smysl a poslanec Šorm rychle ztratil všechny své občanské pozice.

V tu chvíli se ukázalo, jak izolovaní jsou jeho dosavadní chráněnci. Najednou všechny naše pokusy o meziústavní spolupráci narážely na zvláštní organizační překážky. Ústav dosud příliš spoléhal na schopnost svého šéfa zorganizovat biologické testování a tak se syntéza biologicky účinných látek bez možnosti jejich testování náhle dostala do vzduchoprázdna. Nutně následovala etapa studií, v nichž steroidní molekula byla jen rigidním modelem pro chemické reakce s dobře definovanými meziatomárními vzdálenostmi.

## 2. Steroidy v době normalizace

Ke změně muselo dojít už proto, že mnohé osobnosti z týmu zmizely: vedle prof. Šorma tým opustil Ludvík Lábler, který skončil ve Švýcarsku (CIBA) i Jiří Hora, který putoval přes Rakousko a po ročním působení v Anglii skončil v Holandsku. Nějakou dobu pokračovala steroidní chemie setrvačností, pak se část výzkumu soustředila na studium různých modifikací steroidního skeletu a reakcí pozměněných struktur.

Druhá část usilovala o nalezení vhodného biologického cíle. Nabízelo se sice pokračování programu výzkumu steroidních antiandrogenů, ale pravidelné posílání vzorků firmě Smith Kline & French Laboratorium v USA už nebylo v té době možné. S předběžnými výsledky nám vypořádal kolega Linet z Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii, stanovením účinku našich produktů na hmotnost semenných váčků, prostaty a svěrače řítního mladých krysích samečků, delší spolupráci s podobným biologickým testem jsme pak navázali s oddělením Dr. Stárky z Výzkumného ústavu endokrinologického. Spolupráce byla výhodná pro obě strany, protože my chemici jsme na oplátku pro endokrinology vyvinuli řadu haptenu pro selektivní imunologická i standardů pro analytické stanovení steroidních molekul v klinické praxi.

Studium látek potenciálně použitelných v lékařství bylo od počátku zatíženo velkým rizikem: pokud by se kterákoliv z našich látek měla dostat do komerčního použití, náklady na její zavedení do praxe by si tenkrát ústav nemohl dovolit. Je znám bonmot, který je jen přesným popisem situace ve farmacii: pokud by chtěla firma Bayer prosadit do výroby aspirin svého chemika a vynálezce Felixe Hoffmanna ve XX. století, nikdy by jí to za současných okolností neprošlo.

\* Dříve GUSTAV HELL & Company z roku 1883, jedna z nejstarších farmaceutických firem ve střední Evropě.

### 3. Steroidy po pádu komunismu

V nových podmínkách jsme hledali steroid, který vykazuje biologickou aktivitu mimo farmacii. Tím se zdál být brassinolid a látky jemu podobné, rostlinné hormony zvyšující úrodu tím, že chrání kulturní rostliny před stresem, který jim působí nízká či vysoká teplota, sucho nebo zamokření, zasolená i jinak znečištěná půda, napadení škůdci a podobně. Bylo vyvinuto několik účinných analog, jejichž užitečnost byla prokázána i v polních testech. Patent se ale nakonec nepodařilo výhodně prodat.

Se změnou politických poměrů ale pokračoval vnitřní tlak proti existenci steroidních studií na ústavu. Ve veřejných diskusích měli vedoucí týmů obhajovat smysluplnost své tematiky před ostatními pracovníky. Ti často nerozuměli vědeckému argumentu a tak se chytali témat vedlejších. Protiargumentem se např. stala nikdy nevyřčená věta, že děláme vědu ze svého „muzea“ steroidních látek. To ani nebylo možné, protože množství jednotlivých vzorků v muzeu by tenkrát pro testování na určitý fyziologický cíl nestačila, ale byla to jednoduchá a snadno pochopitelná námitka.

V této etapě dozněla éra antiandrogenů i jiných biologicky zaměřených experimentů<sup>4–8</sup>. Stejně tak končila etapa studia steroidů jako modelů pro obecné studium organických reakcí<sup>9–11</sup>. Smůlu měl další projekt, který sice skončil publikací v prestižním časopise a evropským patentem, ale ten pak nebyl řádně využit, když jeho hlavní autor – Georges Teutsch (Roussel Uclaf) odešel do penze<sup>12,13</sup>.

Při hledání vhodného tématu jsme se krátce angažovali ve studiu role steroidů v léčbě osteoporózy, protože tam se rýsovala spolupráce s domácím odborníkem<sup>14,15</sup>. Projekt byl ale předčasně ukončen, když si onen odborník uvědomil, že jiná spolupráce bude finančně výhodnější.

Tlak proti studiu steroidů dále sílil, když počty steroidních prací publikovaných ve světové literatuře nadále klesaly. Vysvětlení bylo nasnadě: komerční potenciál steroidů zahnal většinu steroidních expertů do laboratoří farmaceutických firem, které publikovaly své výsledky jen v případech látek zřetelně neúčinných. Mnohokrát jsme totiž z různých zdrojů zaznamenali zprávy o účincích látek, jejichž příprava nebyla nikdy samostatně publikována.

S nástupem grantového systému se změnil i přístup k historii. Praxe nás naučila nové módě při psaní grantů, např. v titulu už teď nemohlo být jedovaté slovo *steroid*, v literární rešerši jsme záměrně uváděli pouze nejčerstvější citace, abychom předešli oblíbenému klišé o zastaralosti tematiky. Oponenti museli být dle pravidel grantových agentur vybírání z ostatních ústavů, takže jejich znalosti steroidní tematiky zcela automaticky nemohly být aktuální. O steroidech se tyto kolegové učili před více než dvaceti lety a mylně se tedy domnívali, že už tehdy skončil veškerý pokrok ve steroidní chemii.

Grantový systém nás tehdy trochu trápil a není divu, že jsme o tom mluvili i na mezinárodních setkáních. Např. na otázku, zda ve Francii je věda taky podporována granty, přišla zajímavá odpověď: „Ano, ale ne zásadně. Francie je totiž na grantový systém moc malá!“

Nakonec došlo k zásadní reorganizaci a z celého steroidního oddělení zůstala jen skupina tří vědeckých pracovníků a dvou laborantek jako tým cíleného výzkumu. Pro tým se vžila přezdívka Amazonky, třebaže se některé jeho členky klasifikací brání. V zájmu spravedlnosti je třeba připustit, že dosud tyto Amazonky žádného muže nezabily. Tým opustil tradiční prostory v přízemí severozápadního křídla, a jeho osud je načrtnut v příští kapitole.

### 4. Současnost steroidů – Amazonky

Výsledkem celosvětového hledání steroidů pro léčebné účely ve 40. a 50. letech minulého století vedlo ke snadné dostupnosti anabolických steroidů a tím i k jejich hojnému užívání. U uživatelů bylo ale možno pozorovat zvýšenou agresivitu, impulsivitu a celkový posun osobnostních charakteristik. Také kolísání hladiny steroidních hormonů v ženském těle začalo být dáváno do souvislosti se změnami nálad a chování. Zkoumání těchto jevů vedlo k objevu, že steroidy nejen v mozku působí růst tkáně, ale také rychle modulují přenos nervového signálu, tj. přenos informace neurotransmitery na synapsích. A dokonce, že si mozek vyrábí přesně definované molekuly steroidů sám pro svou vlastní potřebu. A takové sloučeniny – **neurosteroidy** – jsou nyní v centru zájmu našeho týmu. Mají totiž velice užitečné vlastnosti<sup>16</sup>. Některé mohou zlepšovat paměť a usnadňovat učení, jiné ochrání mozek před následky zranění, mrtvice, nedostatku kyslíku a další mohou zmírňovat pocit strachu, zlepšovat spánek, zabraňovat křečím, působit proti epilepsii, zmírňovat projevy stárnutí.

Kromě těchto žádoucích vlastností mají neurosteroidy i některé nevýhody. Například se působením enzymů velice rychle mění na neúčinné analogy, nebo dokonce látky, které působí proti původnímu prekurzoru. Tento rychlý katabolismus má svou roli v potřebě rychlé reakce mozku, ale pokud bychom chtěli takové sloučeniny používat k léčení nemocí, nebo příznivému ovlivnění některých procesů, například stárnutí, nebo rychlosti učení, tato rychlá metabolická deaktivace by byla nevýhodná.

Další nevýhodou pro pohodlnou aplikaci je malá rozpustnost steroidů ve vodě. Připravit derivát, který bude rozpustný ve vodě, v organismu přiměřeně stabilní, a přitom si zachová svoji biologickou aktivitu, to byl jeden z úkolů syntetického chemika. Občas i při cílené syntéze jsme narazili na zajímavou reakci, kterou jsme nemohli nechat nevyužitou a dovolili jsme si přepych prostudovat ji<sup>17</sup>.

Studium neurofyziologické aktivity se neobejde bez spolupráce s odborníky. Podařilo se nám vytvořit širokou síť výzkumníků z různých oborů, se kterými na studiu vztahů mezi steroidy a činností nervové soustavy spolupracujeme. Od čistě teoretických výpočtů až k složitě uspořádaným etologickým experimentům s laboratorními zvířaty.

V jednom takovém pokusu naši kolegové zkoumali, jak budou reagovat myši samci na vzájemný kontakt. Myši samce rozdělili podle chování na agresivní, bázlivé a přátelské. Při umístění referenčního přátelského samečka do jednoho boxu s pokusným bázlivým, nebo agresivním,

kterému byl předem aplikován náš produkt, sociálně problematictí živočichové se překvapivě začali chovat též přátelsky. Bez steroidu se ale bázliví krčili v koutě a agresivní útočili.

V současnosti sledují naši kolegové z řad fyziologů vliv našich cíleně připravených produktů na modelech deprese, mozkové mrtvice, neuropatické bolesti. Těto společné práci se občas dostává i veřejného uznání. Např. v roce 2011 dostal za studii našich produktů stážista VŠCHT Lukáš Rambousek cenu Gaudeamus\*\* v rámci akce Česká hlava. V roce 2006 jsme obdrželi, cenu J. E. Purkyně za významnou publikaci<sup>18</sup> v prestižním zahraničním časopise.

Užitečným výsledkům se dnes především snažíme zajistit před zveřejněním patentovou ochranu. Ve spolupráci s TTO UOCHB jsme přihlásili několik vynálezů. Na některé již patenty byly uděleny, jiné jsou zatím v řízení.

#### LITERATURA

1. Reinitzer F.: *Monatsh. Chem.* 9, 421 (1888).
2. Fieser L. F., Fieser M.: *Steroids*, str. 36. Reinhold, New York 1959.
3. Kasal A., Linet O.: *Coll. Czech. Chem. Commun.* 34, 3479 (1969).
4. Stárka L., Hampl R., Kasal A., v knize: *Receptor Mediated Antisteroid Action* (M. K. Agarwal, ed.), str. 17. Walter de Gruyter, Berlin 1987.
5. Kolena J., Kasal A.: *Biochim. Biophys. Acta* 979, 279 (1989).
6. Pokorná J., Kasal A.: *J. Steroid Biochem.* 35, 155 (1990).
7. Linhart O., Kvasnička P., Flajšhans M., Kasal A., Ráb P., Paleček J., Šlechta V., Hamáčková J., Prokeš M.: *Aquaculture* 132, 239 (1994).
8. Kasal A.: *Chem. Listy* 87, 223 (1993).
9. Schraml J., Čermák J., Kasal A.: *Magn. Reson. Chem.* 31, 689 (1993).
10. Schraml J., Jakoubková M., Kvíčalová M., Kasal A.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1 (1994).
11. Kasal A., Schraml J., Čermák J.: *Magn. Reson. Chem.* 32, 394 (1994).
12. Lesuisse D., Berjonneau J., Ciot C., Devaux P., Doucet B., Gourvest J. F., Khemis B., Lang C., Legrand R., Lowinski M., Maquin P., Parent A., Schoot B., Teutsch G., Chodounská H., Kasal A.: *J. Nat. Prod.* 59, 490 (1996).
13. Gourvest J.-F., Kasal A., Lesuisse D., Teutsch J.-G.: EP 944 025 75.8
14. Kasal A., Nováček A.: *Osteol. Bull. (Praha)* 1, 17 (1996).
15. Nováček A., Živný P., Kasal A., Palička V., Řehořková P., Slaninová J.: *Osteol. Bull. (Praha)* 2, 52 (1997).
16. Rambousek L.: *Vesmír* 87, 364 (2008).
17. Šťastná E., Cerný I., Pouzar V., Chodounská H.: *Steroids* 75, 721 (2010).
18. Petrovic M., Sedlacek M., Horak M., Chodounská H., Vyklický L. Jr.: *J. Neurosci.* 25, 8439 (2005).

---

\*\* L. Rambousek: Preklinický vývoj nových syntetických anionických medicínských steroidů (VZP).