

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>

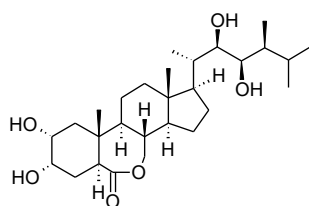
Brassinosteroidy (brassinolidy, BS) jsou specifické rostlinné polyhydroxylované deriváty 5 α -cholestanu, strukturně podobné živočišným steroidním hormonům odvozeným od cholesterolu, polyhydroxylovaným žlučovým kyselinám¹ a ekdysteroidům hmyzu². Vyznačují se *cis*-diolem na kruhu A v poloze na C-2 a 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 polyhydroxylovaných steroidů 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.

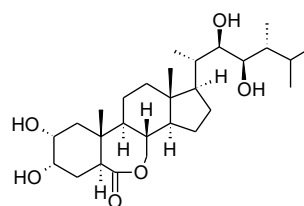
Výzkum BS vždy omezovala jejich malá dostupnost v přírodě a syntetická obtížnost, syntézu v provozním měřítku se však podařilo vyřešit ať již využitím buněčných kultur⁵ nebo částečnou syntézou⁶. Zájem o tuto skupinu látek stále roste⁷. Web of Science na dotaz „brassinolide“ odpovídá 1309 a „brassinosteroid“ 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.

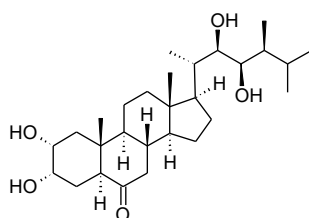
U rostlin BS zvyšují syntézu dalších fytohormonů, podporují individuální expanzi buněk a proteinovou syntézu, aktivují fotosyntézu pomocí klíčových enzymatických reakcí, a tím zvyšují růst, vývoj a stabilitu rostlin.



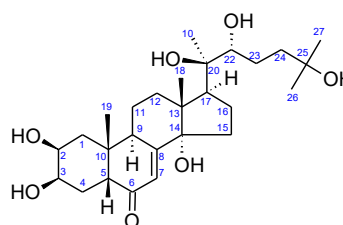
brassinolid



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 zástupce nové generace bioracionálních agrochemikálií, které nemají žádný vliv na životní prostředí, působí přírodními dávkami a přírodním způsobem¹¹. Tradičně se účastní potravinových řetězců lidí a savců, neb jejich metabolická cesta je pro ně evolučně obvyklá. Obsah BS

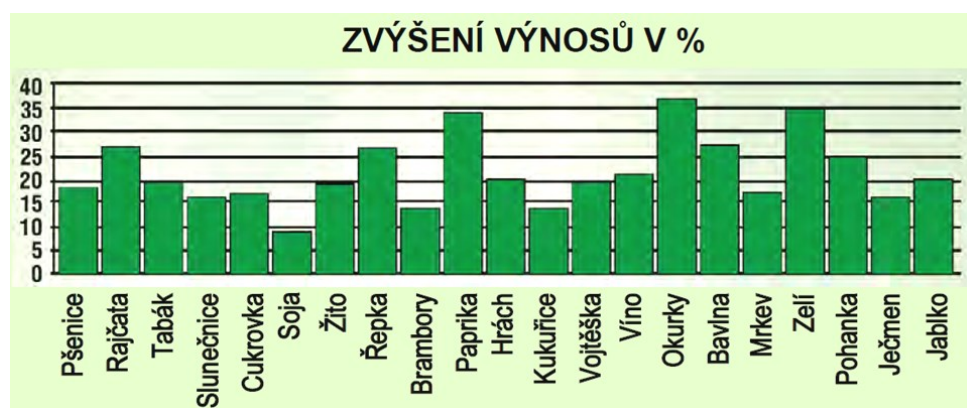
v rostlinách se zvyšuje během prvních 12 až 14 dnů po ošetření, pak během následujících 10 dnů se přípravek zcela metabolizuje. Hlavními metabolity jsou steroidní glykosidy. Rostliny musí být ošetřeny ve vhodné fázi vývoje; dobré výsledky poskytuje aplikace u mladých rostlin. K dispozici jsou dva režimy 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 vzhledu, 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 vitamínů, 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 aniž snižují 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 chovy^{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) (*Paramixoviridae*), 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 vykázaly, 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, polopравd a nesmyslů, které jsou kolem přírodních sloučenin dnes šířeny. Je nabitelní, 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 mají 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. Prováděcí 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., Nikonorov S. I., Tikhomirov A. M., Zagriichuk V. P., Abtakhii 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. Malíková 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 adaptogenic 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>