

## PŘEHLEDY A ODBORNÁ SDĚLENÍ

## Mikrobiálne sekundárne metabolity ako inhibítory farmaceuticky významných oxidoreduktáz a transferáz

### Microbial secondary metabolites as inhibitors of pharmaceutically important transferases and oxidoreductases

Eva Buchtová • Mária Šturdíková

Došlo 13. apríla 2012 / Prijato 9. mája 2012

#### Súhrn

Mikroorganizmy sú známe svojou schopnosťou produkovať bioaktívne sekundárne metabolity, ktoré sa často využívajú v klinickej praxi nielen ako antibiotiká. Tieto zlúčeniny sa vyznačujú mnohými biologickými aktivitami, dôležitými v terapii nádorových chorôb, zápalových ochorení, autoimunitných a metabolických porúch. Veda a medicínske výskumy priniesli veľa nových a užitočných poznatkov z oblasti terapie závažných chorôb spôsobených patofyziologickou aktivitou niektorých enzýmov, čo sa ako súčasná problematika neustále študuje mnohými výskumnými vedeckými odborníkmi. Veľa látok bolo objavených ešte v minulom storočí, avšak ich potenciál a rôzne modifikácie zlepšujúce ich perspektívu na terapeutické využitie neustále pokračuje. Nové poznatky v oblasti enzymológie o enzýmových inhibítoroch a mechanizmoch účinkov dávajú priestor na objavy nových farmakoterapeutík, ktoré budú účinnejšie a menej toxické.

**Kľúčové slová:** sekundárne metabolity • mikrobiálni producenti • enzýmové inhibítory • patofyziológia enzýmových reakcií

#### Summary

Microorganisms are known for their production of an enormous variety of biologically active secondary metabolites including antibiotics, immunosuppressants and anticancer agents. These compounds have many important biological activities used in the clinical practice in drug treatment of cancer, inflammatory, autoimmune diseases and metabolic disorders. The science and medicine research have been yielded hundreds items of useful knowledge in the therapy of many serious human diseases caused by pathophysiological mechanisms of enzymes. Many

substances were discovered already in the last century, but the research of their potential and various modifications improving their prospects of therapeutic use still continues. The new knowledge about mechanisms of the action and enzyme inhibitors in the field of enzymology gives space in drug discovery and development of safer and more effective pharmacotherapy.

**Keywords:** secondary metabolites • microbial producers • enzyme inhibitors • pathophysiology of enzyme reactions

#### Úvod

Mikroorganizmy tvoria antibiotiká ako takzvané sekundárne metabolity. Sú to produkty ich metabolizmu, ktoré nie sú nepostrádateľné pre rast a reprodukciu bunky, zato môžu potláčať rast konkurenčných mikroorganizmov. Sekundárne metabolity sú prírodné látky rastlinného alebo mikrobiálneho pôvodu. Majú komplexnú chemickú štruktúru (alkaloidy, pigmenty, toxíny), sú špecifické pre jednotlivé druhy organizmov a na rozdiel od primárnych metabolitov sa syntetizujú len v určitej fáze životného cyklu bunky po vytvorení signálnych molekúl, ktoré špecificky regulujú ich tvorbu. Významnou aplikáciou niektorých sekundárnych metabolitov je inhibícia enzýmových aktivít, ktorá má značný praktický význam. Použitie inhibítorov patrí medzi najdôležitejšie diagnostické metódy enzymológie. Poskytuje nielen dôležité údaje o špecificite enzýmov, architektúre aktívneho miesta a mechanizme účinku, ale zohráva aj významnú úlohu pri identifikácii intermediátov rôznych metabolických dráh. Inhibítory ďalej umožňujú zasahovať do látkovej premeny organizmov, preto nachádzajú široké uplatnenie v medicíne a hygiene v boji proti infekciám (sulfónamidy), zhubnému bujneniu buniek (cytostatiká), pri transplantáciách (imunosupresíva tlmiace imunitný systém) i v poľnohospodárstve (herbicidy, insekticidy). Veda a vývoj nových liečiv umožnili objav nových terapeutických cieľov, biologických mechanizmov účinku liekov a chemických látok, ktoré sú vhodné na klinické použitie. Poruchy regulácie enzýmových aktivít kináz,

Ing. Eva Buchtová (✉) • M. Šturdíková  
Slovenská technická univerzita, Ústav biotechnológie  
a potravinárstva, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie  
Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika  
e-mail: eva.buchtova@gmail.com

fosfatáz, peptidáz a mnohých ďalších enzýmov vyvolávajú veľa závažných chorôb, a preto je dôležitý neustály výskum, hlbšie pochopenie enzymológie a jej praktické aplikácie v medicíne. V tomto článku sme sa zamerali na mikrobiálne produkované inhibítory vybraných medicínsky dôležitých oxidoreduktáz a transferáz.

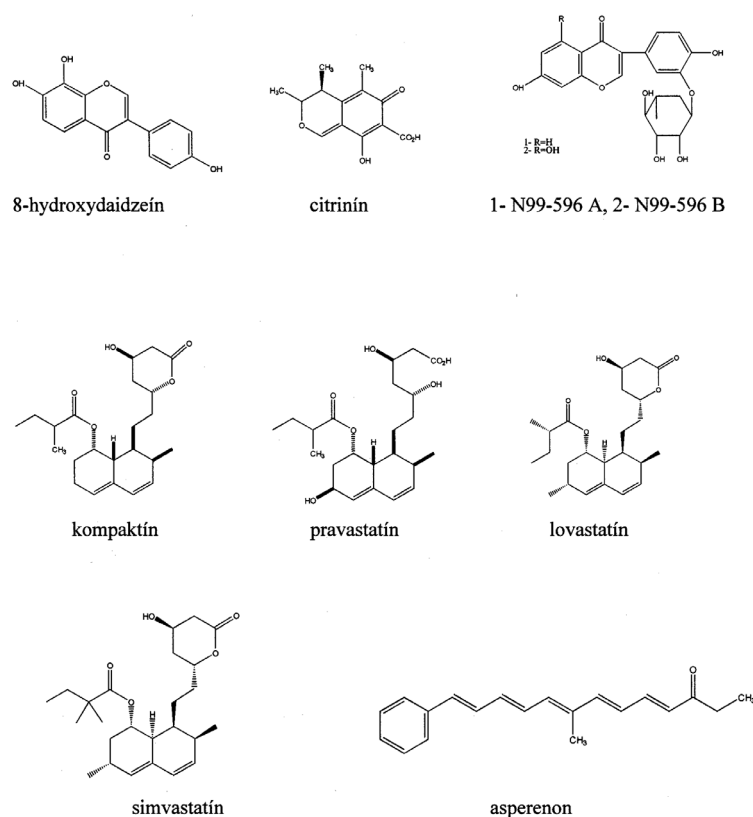
### Mikrobiálne produkované inhibítory oxidoreduktáz

Oxidoreduktázy zabezpečujú v ľudskom organizme mnohé významné reakcie, ich nesprávne funkcie môžu spôsobiť poruchy metabolizmu a následné závažné zdravotné komplikácie. Medzi medicínsky významné oxidoreduktázy patria lipoxigenázy, hydroxymetylglutarylkoenzým A-reduktáza, aldózareduktáza a i., ktorých nesprávne regulácie aktivít zapríčiňujú vznik závažných humánnych chorôb, ako sú napríklad ateroskleróza, kardiovaskulárne a cerebrovaskulárne choroby, alergie či metabolické poruchy<sup>1,2</sup>.

#### Inhibítory aldózareduktázy

Väčšina pacientov s diabetom trpí dlhodobými komplikáciami ako sú neuropatia, nefropatia, retinopatia a šedý zákal<sup>3</sup>. Tieto komplikácie sú zapríčinené chronickou hyperglykémiou, ktorá spôsobuje poškodenie ciev, periférnych nervov a tým značne zvyšuje riziko srdcového infarktu. Vedci nachádzajú stále viac súvislostí medzi polyolovou glukózovou metabolickou dráhou a vyššie uvedenými dlhodobými komplikáciami. Aldózareduktáza (EC 1.1.1.21) je prvým enzýmom polyolovej dráhy a katalyzuje premenu glukózy na sorbitol za prítomnosti

kofaktorového systému NADP/NADPH (nikotínamidadeninindinukleotidfosfát a jeho redukovaná forma). Sorbitol sa môže akumulovať v bunkách a následne aj fruktóza prostredníctvom sorbitoldehydrogenázy (EC 1.1.1.14)<sup>4</sup>. Hladina myoinozitolu v periférnych nervoch naopak klesá, a dochádza tak k disbalancii NADP/NADPH systému. Preto sa v posledných desaťročiach dostávajú do pozornosti farmaceutických spoločností špecifické enzýmy tejto metabolickej dráhy a vývoj nových inhibítorov<sup>2</sup>. **8-Hydroxydaidzeín** (obr. 1) bol purifikovaný z metanolického extraktu kultúry *Aspergillus* sp. HK-388 izolovanej z pôdy v blízkosti japonského mesta Osaka. Tento izoflavonoid má disociačnú konštantu ( $K_i$ )  $7 \mu\text{mol.l}^{-1}$  a je to nekompetitívny inhibítor enzýmu aldózareduktázy<sup>5</sup>. Testy na bunkovej línii myšacieho myelómu (B16) potvrdili, že tento inhibítor účinne blokuje aj aktivitu tyrozinázy (EC 1.14.18.1)  $IC_{50}$   $10,54 \mu\text{mol.l}^{-1}$  a melanogénu  $IC_{50}$   $6,17 \mu\text{mol.l}^{-1}$ . Depigmentácia bola 10-krát účinnejšia než pri použití štandardnej látky (kyselina kójová) v bunkovom systéme<sup>6</sup>. **Citrinín** (obr. 1) bol izolovaný z kultivačného média kultúr vláknitých húb rodov *Penicillium*, *Aspergillus* a *Monascus*<sup>7</sup>. Tento fungálny mykotoxín a jeho hydroxyderiváty mali významné inhibičné aktivity na enzým aldózareduktázu  $IC_{50} < 10 \mu\text{mol.l}^{-1}$ . Kinetické štúdie vyvrátili predpoklad, že citrinín je ireverzibilný inhibítor, čo sa usudzovalo na základe jeho chemickej štruktúry, avšak kvôli jeho vysokej nefrotoxicite nebol nikdy uvedený do klinickej praxe<sup>8,9</sup>. Devi a spol.<sup>10</sup> izolovali citrinín z kultúry *Penicillium chrysogenum* MTCC 5108 a testovali jeho antimikrobiálnu aktivitu. Spektrum anti-



Obr. 1. Chemické štruktúry mikrobiálne produkovaných inhibítorov oxidoreduktáz

Tab. 1. Mikrobiálne metabolity s inhibičným účinkom na aldózareduktázu

Metabolit	IC <sub>50</sub> (μmol.l <sup>-1</sup> )	Produkčný mikroorganizmus
moniliformín	19	<i>Fusarium moniliforme</i> <sup>12)</sup>
sklerotorin	0,4	<i>Penicillium frequentans</i> <sup>13)</sup>
nigerloxin	69	<i>Aspergillus niger</i> CFR-1046 <sup>14)</sup>
asperaldin	27	<i>Aspergillus niger</i> CFR-W-105 <sup>15)</sup>
WF-2421	0,03	<i>Humicola grisea</i> <sup>16)</sup>
YUA001	1800	<i>Corynebacterium</i> sp. YUA25 II <sup>17)</sup>

mikrobiálnych účinkov citrinínu zahŕňalo niektoré gram-pozitívne (*Staphylococcus aureus*), gram-negatívne baktérie (*Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Vibrio cholerae*) a aj vláknité huby (najmä *Fusarium* sp.). Aktinomycéty *Streptomyces diannanensis* izolované z pôdy v čínskej provincii Yunnan produkovali dva ramnopyrazinoidy **N99-596 A** a **N99-596 B** (obr. 1) s inhibičnými účinkami na enzým aldózareduktázu (IC<sub>50</sub> (N99-596 A) 170 μmol.l<sup>-1</sup>, IC<sub>50</sub> (N99-596 B) 165 μmol.l<sup>-1</sup>)<sup>11)</sup>. Prehľad vybraných mikrobiálnych metabolitov vyznačujúcich sa inhibičným účinkom na aldózareduktázu a ich hodnoty IC<sub>50</sub> sú sumarizované v tabuľke 1.

#### Inhibítory hydroxymetylglutaryl-koenzým A- reductázy

Hydroxymetylglutaryl-koenzým A-reduktáza (HMG-CoA-reduktáza) (EC 1.1.1.34) katalyzuje premenu hydroxymetylglutaryl-koenzýmu A na kyselinu mevalónovú, ktorá je intermediátom *de novo* biosyntézy cholesterolu, koenzýmu Q10 a dolicholu, ktorej predchádza mnoho ďalších enzymatických reakcií a medziproduktov ako sú napríklad farnezylypyrofosfát a geranylgeranylpyrofosfát<sup>18)</sup>. Okrem fyziologickej funkcie regulovať hladinu cholesterolu v krvi sa HMG-CoA-reduktáza stala terčovým enzýmom vo vývoji nových liečiv na terapiu niektorých civilizačných chorôb. Nízkomolekulové zlúčeniny zahŕňajúce mikrobiálne sekundárne metabolity, ale aj syntetické inhibítory HMG-CoA-reduktázy sa súhrne nazývajú statíny. Statíny efektívne redukujú hladinu LDL cholesterolu v krvnej plazme a vykazujú pleiotropný efekt na cievny systém, preto majú široké využitie v prevencii a liečbe hypercholesterolémie, aterosklerózy, kardiovaskulárnych a cerebrovaskulárnych chorôb<sup>19)</sup>. Súčasné štúdie poukazujú aj na súvislosť medzi statínmi a znižovaním úrovne proliferácie určitých typov nádorových buniek v dôsledku inhibície syntézy geranylgeranylpyrofosfátu a farnezylypyrofosfátu, ktorá narúša metabolické dráhy potrebné na prežitie nádorových buniek a spôsobí ich apoptózu<sup>20)</sup>. **Kompaktín** (mevastatín) (obr. 1) bol izolovaný z kultúry *Penicillium brevicompactum* v priebehu submerznej fermentácie a ako kompetitívny inhibítor HMG-CoA-reduktázy ovplyvňuje biosyntézu cholesterolu. Štruktúrne patrí kompaktín do skupiny polyketidov a jeho hydroxylový derivát pravastatín (obr. 1), ktorý sa indikuje na liečbu aterosklerózy, je získavaný biotransformáciou mikroorganizmom *Streptomyces carbophilus*<sup>21)</sup>. Komerčne sa tento fungálny metabolit syntetizuje použitím kmeňov *Penicillium citrinum*, *Penicillium cyclopium* a *Aspergillus terreus*, prípadne ich geneticky upravených mutantov<sup>22)</sup>. **Lovastatín** (mevino-

lín) (obr. 1) je reverzibilný kompetitívny inhibítor enzýmu hydroxymetylglutaryl-koenzým A-reduktázy, ktorý má medicínske využitie nielen u pacientov s vysokými hladinami cholesterolu. Medzi aplikácie tohto inhibítora v klinickej praxi patrí aj liečba fraktúr, obličkových a malígnych chorôb<sup>23–25)</sup>. Pre jeho protizápalové a imunomodulačné účinky bol testovaný ako liečivo neurologických chorôb, zapríčinených nekompetentnou imunitnou odpoveďou organizmu<sup>26)</sup>.

Komerčne sa lovastatín syntetizuje prostredníctvom fermentácií kultúr *Penicillium* species, *Monascus ruber*, *Aspergillus terreus*<sup>27)</sup> a je distribuovaný pod obchodným názvom Mevacor® (Merck & Co., Inc). Deacetyláciou mevinolínu prostredníctvom esterovej hydrolyzy a reesterifikácie sa vyrába simvastatín (obr. 1), semi-syntetický statín, známy pod obchodným názvom Zocor™ (Merck & Co., Inc), ktorý má okrem znižovania hladiny cholesterolu aj neuroprotektívne účinky<sup>28, 29)</sup>.

#### Inhibítory lipoxygenáz

Lipoxygenázy (LOX) (EC 1.13.11) sú predmetom intenzívneho výskumu predovšetkým v živočíšnych systémoch. Premenu kyseliny arachidónovej na kyselinu hydroperoxyeikozatetraénovú katalyzujú živočíšne LOX prvý krok v syntéze regulačných molekúl – lipoxínov a leukotriénov dôležitých v niekoľkých fyziologických procesoch, napr. v zápalovej odpovedi charakteristickej pre alergické prejavy, ako sú astma, artritída, v chemotaktickej a mitogénnej odpovedi v bunkách hladkých svalov obehového systému<sup>1)</sup>. Inhibítory 5-lipoxygenázy (EC 1.13.11.34) sú potenciálne liečivá astmatických a zápalových chorôb. Enzýmy 12-LOX (EC 1.13.11.31) a 15-LOX (EC 1.13.11.33) sú terapeutickým cieľom pre inhibítory v súvislosti s liečbou aterosklerózy a nádorových chorôb<sup>30, 31)</sup>. **Asperenon** (obr. 1) bol prvýkrát izolovaný Jeffersonom<sup>32)</sup> a nezávisle druhým výskumným tímom Yu a spol.<sup>33)</sup> z kultúry *Aspergillus niger*, neskôr sa extrahoval aj z rastliny *Phellinus pini* ako metabolit s preukázanou antifungálnou aktivitou proti patogénnym hubám *Ophiostoma crassivaginatum* a *Ophiostoma piliferum*<sup>34)</sup>. Rao a spol.<sup>35)</sup> izoloval tento mikrobiálny metabolit z kultúry *Aspergillus niger* CFTRI 1105, ktorý vykazoval inhibičnú aktivitu proti 15-lipoxygenáze izolovanej zo sóje s hodnotou IC<sub>50</sub> 0,3 μmol.l<sup>-1</sup> a proti agregácii ľudských krvných doštičiek IC<sub>50</sub> 0,23 μmol.l<sup>-1</sup>. Tieto hodnoty boli porovnané s hodnotami inhibičnej aktivity štandardného inhibítora LOX-1 (kyselina kávová, IC<sub>50</sub> 0,2 μmol.l<sup>-1</sup>) a agregácie trombocytov (kyselina acetylsalicylová, IC<sub>50</sub> 0,19 μmol.l<sup>-1</sup>). Chidananda a spol.<sup>36)</sup> uskutočnili aj ďalšie experimenty zamerané na zvýšenie produkcie asperenonu pomocou kmeňa *Aspergillus niger* CFTRI 1105. Vlákňitú hubu vystavili ultrafialovému žiareniu a pôsobeniu kyseliny dusítej. Maximálny výťažok 60,3 mg/g biomasy produkoval mutant II N 31, ktorý zvýšil produkciu až 670-krát oproti kontrolnému kmeňu bez mutácie.

**Sklerotiorin** bol získaný z kultivačného média vlákni-  
tej huby *Penicillium frequentans* ako účinný reverzibilný  
akompetitívny inhibítor lipoxygénázy-1 (EC 1.13.11.12)  
izolovanej zo sóje, s hodnotou strednej inhibičnej kon-  
centrácie  $IC_{50}$  4,2  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ . Táto zlúčenina vykazovala aj  
antioxidačné aktivity, takže sklerotiorin mohol inhibovať  
LOX dvomi spôsobmi. Prvým spôsobom bola interakcia  
s komplexom enzým-substrát a druhým ako antioxidant  
mohol vychytávať voľné radikály medziproduktov vzni-  
kajúcich pri enzýmovej reakcii<sup>37</sup>). Optimalizáciou zlož-  
enia fermentačných médií sa dosiahlo výrazné zvýšenie  
(54-krát) produkcie sklerotiorinu kmeňom *Penicillium*  
*sclerotiorum*. Maximálny výťažok 313  $\text{mg.l}^{-1}$  kultivačného  
médiá sa dosiahol v dextrólopeptónovom médiu obo-  
hatenom minerálnymi soľami<sup>38</sup>).

**Nigerloxin** bol izolovaný z kultúry *Aspergillus niger*  
ako metabolit s inhibičnými aktivitami proti lipoxygéná-  
ze-1 ( $IC_{50}$  79  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ) a aldózareduktáze so schopnosťou  
vychytávať voľné radikály<sup>39</sup>). V rokoch 2007 a 2009 sa  
uskutočnili úspešné experimenty zamerané na optimali-  
záciu kultivačných polosuchých médií kultúry *Aspergil-  
lus niger* Van Thieghem<sup>40, 41</sup>).

#### Mikrobiálne produkované inhibítory transferáz

Medzi najznámejšie transferázy študované v súvis-  
losti s ich nežiadúcimi aktivitami patria reverzné tran-  
skriptázy vírusov, ktoré sa spájajú so vznikom víruso-  
vých a onkogénnych chorôb<sup>42</sup>) a kinázy, regulujúce  
aktivitu ďalších bielkovín, čím nepriamo ovplyvňujú aj  
činnosť buniek. Kinázy hrajú dôležitú úlohu v mnohých  
vnútrobunkových signálnych dráhach, vrátane tých,  
ktoré riadia rast a delenie buniek, preto sú dôležitými  
cieľovými molekulami vo vývoji nových protinádoro-  
vých liečiv<sup>43</sup>).

#### Inhibítory reverznej transkriptázy

Správna funkcia reverznej transkriptázy (RT)  
(EC 2.7.7.49) je nepostrádateľná pre životný cyklus  
retrovírusov. Reverzné transkriptázy vtáčieho myelo-  
blastického vírusu (AMV) a vírusu ľudskej imunodefici-  
ciencie (HIV-1) sú heterodiméry zložené z dvoch nei-  
dentických monomérnych podjednotiek. Sú to  
multifunkčné enzýmy, ktoré majú aktivity RNA- a DNA-  
dependentnej DNA polymerázy a ribonukleázy H<sup>44</sup>).  
V súčasnej dobe sa na terapiu HIV-1 infekcie používajú  
dve triedy syntetických RT inhibítorov: nukleozidové  
inhibítory RT (napr. zidovudín, lamivudín), ktoré sa via-  
žu priamo na aktívne miesto enzýmu a po inkorporácii  
do nosyntetizovanej DNA ukončia ďalšiu syntézu  
a nenukleozidové inhibítory RT (napr. efavirenz, nevirapín),  
ktoré sa viažu na alosterické miesto polymerázy<sup>45</sup>).  
Špecifické blokátory týchto enzýmov predstavujú sľub-  
ných kandidátov na terapiu retrovírusových chorôb,  
avšak kvôli jeho genetickej diverzite, spôsobenej vys-  
okou frekvenciou chýb pri transkripcii vírusového génu  
je potrebný neustály výskum a vývoj nových účinných  
inhibítorov<sup>42</sup>).

**Paromomycín** (obr. 2) s pôvodným názvom aminoci-  
dín bol prvýkrát izolovaný z filtrátov *Streptomyces kre-  
stomuceticus*. Patrí do skupiny aminoglykozidových  
antibiotík a jeho spektrum účinku zahŕňa väčšinu gram-  
negatívnych a mnoho gram-pozitívnych baktérií. Neob-

vyklostoť je, že je účinný aj proti protozoám a pásomni-  
ciam. Jeho inhibičné účinky na reverznú transkriptázu  
vtáčieho myeloblastického vírusu popísal ako prvý  
Demain a spol.<sup>46</sup>). Vo forme masti sa používa na liečbu  
kožnej leišmaniózy, ale jeho užívanie sa môže spájať  
s viacerými nežiadúcimi účinkami, medzi ktoré často  
patrí napríklad poruchy obličiek, dehydratácia alebo  
ototoxicita<sup>47</sup>).

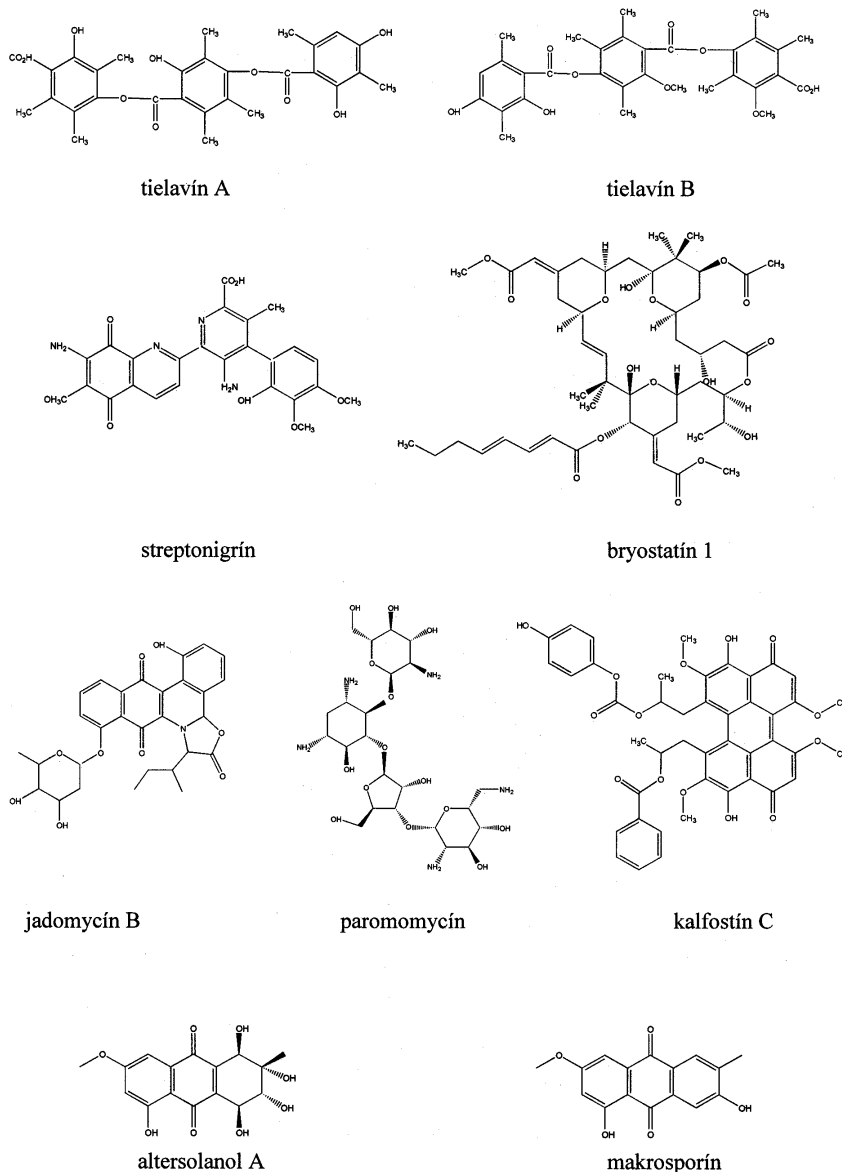
**Thielavíny** sú fungálne metabolity izolované z ne-  
identifikovanej vlákniatej huby MST-FP1888<sup>48</sup>) a inhibujú  
AMV-RT<sup>46</sup>). Thielavín A (obr. 2) bol pôvodne izolovaný  
ako inhibítor biosyntézy prostaglandínov a sú preukáza-  
né aj jeho inhibičné účinky na enzým glukózo-6-fosfatá-  
zu (EC 3.1.3.9)<sup>49</sup>). Štruktúrne veľmi podobný thielavín B  
(obr. 2) pôsobí inhibične na membránovú transglykozy-  
láciu<sup>50</sup>) a telomerázu<sup>51</sup>).

História objavu **streptonigrínu** (obr. 2) siaha do  
roku 1959, kedy bola popísaná izolácia tmavohnedého  
kryštalického metabolitu z kultúry *Streptomyces flo-  
cculus*<sup>52</sup>). Neskôr sa identická látka získala z kultúr  
*Streptomyces rufochromogenes*, *Streptomyces chinatu-  
es*<sup>53</sup>), *Actinomyces albus* var. *Bruneomycini*<sup>54</sup>) a bola  
pomenovaná ako rufochromomycín a bruneomycín.  
Spoločný názov týchto metabolitov - streptonigrín sa  
zjednotil v roku 1968<sup>55</sup>). Vzhľadom na jeho široké anti-  
vírusové a antibakteriálne účinky sa čoskoro strepto-  
nigrín dostal do pozornosti farmaceutického priemys-  
lu. Okrem toho sa zistila aj jeho vysoká protinádorová  
aktivita na niektoré zvieracie a ľudské bunkové línie,  
avšak kvôli jeho vysokej toxicite spôsobujúcej závažné  
nežiaduce účinky má len veľmi obmedzené použitie  
v klinickej praxi<sup>56</sup>). Napriek tomu toto antibiotikum  
inšpirovalo svojim mechanizmom účinku a chemickou  
štruktúrou mnoho organických chemikov, farmakoló-  
gov a fyzikov. V posledných rokoch sa podarilo strep-  
tonigrín izolovať aj z ďalších aktinomycét rodu *Kitasa-  
tospora*<sup>57</sup>).

#### Inibítory proteín-kinázy C

Proteín-kináza C (PKC) (EC 2.7.11.13) patrí do sku-  
piny serín/treonín-proteínových kináz, ktoré sa podieľajú  
na riadení funkcií ďalších proteínov prostredníctvom fos-  
forylácie hydroxylových skupín serínových a treonín-  
ových zvyškov. Aktivácia sa realizuje pomocou zvýšenej  
koncentrácie diacylglycerolu a vápnikových katiónov.  
Izoenzýmy proteín-kinázy C regulujú signálne dráhy  
proliferácie buniek, metastáz a rezistencie nádorových  
buniek proti cytostatikám. Zvýšené aktivity PKC boli  
popísané v súvislosti s nádorovými chorobami prsníkov,  
žalúdka a mozgového tkaniva<sup>58, 59</sup>). Veľa súčasných štúdií  
inhibítorov týchto transferáz bolo zameraných na bližšiu  
charakterizáciu a mechanizmy účinku indolkarbazolov  
(napr. staurosporín), ktorých cieľovým miestom na PKC  
je väzbové miesto pre ATP. Preštudované boli aj mecha-  
nizmy makrocyclických laktónov (napr. bryostatín) –  
antagonistov PKC, ktoré stimulujú degradáciu PKC  
sprostredkovanú ubiquitínom. Avšak napriek povzbudi-  
vým predklinickým testom boli zatiaľ výsledky klinic-  
kých štúdií sklamaním pravdepodobne kvôli vysokému  
počtu funkčne odlišných izoenzýmov PKC a nedostatoč-  
nej špecificite skúmaných inhibítorov<sup>60, 61</sup>).

Fungálny metabolit s preukázanou inhibičnou akti-



Obr. 2. Chemické štruktúry mikrobiálne produkovaných inhibítorov transferáz

vitou na PKC – **kalfostín C** (obr. 2) bol izolovaný japonským výskumným tímom Kobayashi a spol.<sup>62)</sup> z kultúry kmeňa *Cladosporium cladosporioides*. Inhibičná aktivita striktné závisí na fotoexcitácii, ktorá zapríčiňuje ireverzibilné modifikácie špecifických oblastí PKC. Tieto zistenia vyvolali nádej, že kalfostín C by mohol byť užitočným prostriedkom na fotodynamickú terapiu nádorových chorôb. Zatiaľ sú však dostupné len výsledky predklinických štúdií, ktoré preukázali, že tento inhibítor môže vyvolať apoptózu v širokom spektre ľudských línii nádorových buniek vrátane gliómu, karcinómu krčka maternice, nosohltanu, prostaty a lymfatickej leukémie<sup>63, 64)</sup>. V odbornej literatúre je popísaný aj iný mechanizmus účinku tejto látky, ktorý nezávisí na inhibícii PKC. Napríklad kalfostín C inhibuje fosfolipázu D (EC 3.1.4.4) a v koncentráciách, ktoré spúšťajú apoptózu, môže zapríčiniť zvýšenie reaktívnych foriem kyslíka, oxidáciu a degradáciu lamínu B (po rozdelení bunky, ukotvuje chromozómy v jadrovej membráne a udržiava s ostatnými proteínmi

celkový tvar jadra), poškodenie Golgiho membrán, inhibíciu endocytózy a mobilizáciu vápnika z vnútrobunkových zásob. Ďalšie štúdie na nádorovej bunkovej línii z prsníkov (MCF-7) naznačujú, že inhibítor môže ničiť nádorové bunky iným, novým mechanizmom v súvislosti s akumuláciou cytoplazmatických vakuol neznámeho pôvodu<sup>61, 65)</sup>.

**Bryostatíny** sú skupinou štruktúrne podobných cyklických polyketidov, pôvodne izolovaných z morskej machovky *Bugula neritina*. Pretože výťažky týchto bioaktívnych metabolitov boli veľmi nízke, Trindade-Silva a spol.<sup>66)</sup> sa zamerali na štúdium symbiotických mikroorganizmov *Candidatus Endobugula sertula*, ktoré obsahujú skupinu génov produkujúcich bryostatíny s ochranným účinkom na larvy machovky pred predátormi. V súčasnosti prebiehajú genetické štúdie symbiotických baktérií a kultivácie týchto zaujímavých morských mikroorganizmov pre ich biotechnologické využitie, zatiaľ však neúspešne. Najviac preskúmaný je bryostatín 1 (obr. 2), ktorý má unikátne spektrum biologických účin-

kov na niekoľko druhov nádorových chorôb vrátane modulácie apoptických procesov a stimulácie imunitného systému. Na základe predbežných výsledkov prebiehajúcich klinických štúdií bryostatín a jeho analógy sú sľubnými kandidátmi na liečivá proti nádorovým chorobám, pričom nezanedbateľným faktom je aj mimoriadne nízka dávka (cca 50  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ ) potrebná na osemtyždňový klinický cyklus. Jeho aktivity majú významný potenciál aj ako liečivá vírusových a neurodegeneratívnych chorôb<sup>67</sup>.

#### Inhibitory aurora B-kinázy

Aurora B-kináza (EC 2.7.11.1) je súčasťou skupiny serín/treonín-proteínových kináz, ktoré sa vyskytujú v živočíšnych bunkách a reguluje presun chromozomálneho komplexu počas mitózy fosforyláciou H3 histónu na serínovom zvyšku proteínov za účasti ostatných regulačných molekúl. Zvýšená hladina aurora B-kinázy bola pozorovaná v širšom spektre nádorových buniek vrátane nádorov prsníka, pankreasu, vaječníkov a tráviaceho traktu. Táto kináza je zodpovedná za správnu funkciu mikrotubulov, vyrovnanie, segregáciu chromozómov a je aktívna len počas mitózy, čím sa stala perspektívnou cieľovou molekulou vo vývoji nových protinádorových liečiv<sup>68</sup>.

Ayer a spol.<sup>69</sup> izoloval sekundárny metabolit **jadomycín B** (obr. 2) z kultúry kmeňa *Streptomyces venezuelae* ISP5230. Táto polyketidová zlúčenina obsahovala nezvyčajný atóm dusíka začlenený do pentacyklickej štruktúry pravdepodobne pochádzajúci z izoleucínu. Jadomycín B indukoval apoptózu už pri koncentrácii 5  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  bez zjavného zásahu do bunkového cyklu a bez tvorby polyploidných buniek. Výsledky testov potvrdili inhibíciu proliferácie v týchto nádorových bunových líniiach: HepG2 (z pečene), H460 (z pľúc), IM-9 a IM-9/Bcl-2 (z lymfoblastov). Hodnota disociačnej konštanty (Ki) tejto látky pre aurora B-kinázu je 6,8  $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  a zaraďuje sa medzi nezvyčajné angucyklínové antibiotiká s antibakteriálnymi účinkami na kmene *Staphylococcus epidermidis* C621 a *Staphylococcus aureus* C623 (MRSA - *Staphylococcus aureus* rezistentný na meticiín)<sup>70, 71</sup>.

**Altersolanol A** (obr. 2) a makrosporín (obr. 2) sú sekundárne metabolity endofytickej huby *Stemphylium botryosum* izolovanej z listov farmaceutickej rastliny *Chenopodium album*. Tieto inhibitory aurora B-kinázy majú hodnotu  $\text{EC}_{50}$  2,2  $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Aly a spol.<sup>72</sup> testovali ich cytotoxické aktivity na bunkovej línii myšacieho lymfómu L5178Y, pričom altersolanol A mal účinnejší inhibičný efekt na proliferáciu týchto buniek ( $\text{EC}_{50}$  0,6  $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) než makrosporín.

#### Záver

Príroda je od nepamäti nepostrádateľným zdrojom liečivých prostriedkov a látok s pozitívnym účinkom na ľudský organizmus. Mikroorganizmy a rastliny sú známe svojou produkciou sekundárnych metabolitov, často využívaných v medicíne, farmaceutickom priemysle a poľnohospodárstve. Mikrobiálna produkcia metabolitov je efektívnejšia a ekologickejšia spôsob získavania týchto terapeuticky zaujímavých produktov

ako je ich izolácia z rastlinných zdrojov. Bioaktívne zlúčeniny sa zvyčajne tvoria v zmesi štruktúrnej podobných nízkomolekulových látok v procese sekundárneho metabolizmu a často sa vyznačujú antibakteriálnymi, antifungálnymi, imunosupresívnymi, protizápalovými alebo cytotoxickými aktivitami. Nezanedbateľným účinkom je aj enzým-inhibičná aktivita, ktorá sa uplatňuje v terapii závažných ľudských chorôb a metabolických porúch. Praktický výskum, hlbšie pochopenie enzymológie a štúdium mechanizmov účinku inhibítorov umožní objav nových účinných farmakoterapeutík s významnými aplikáciami v klinickej praxi.

**Konflikt záujmu:** žiadny.

#### Literatúra

- Holková I., Bezáková L., Vanko M., Bilka F., Obložinský M.: Lipoxygenázy a ich význam v biochemických procesoch v rastlinných organizmoch. Chem. Listy 2009; 103, 475–495.
- Chen X., Yang Y., Ma B., Zhang S., He M., Gui D., Hussain S., Jing Ch., Zhu Ch., Yu Q., Liu Y.: Design and synthesis of potent and selective aldose reductase inhibitors based on pyridylthiadiazine scaffold. Eur. J. Med. Chem. 2011; 46, 1536–1544.
- Alexiou P., Pegklidou K., Chatzopoulou M., Nicolaou I., Demopoulos V. J.: Aldose reductase enzyme and its implication to major health problems of the 21(st. century). Curr. Med. Chem. 2009; 16, 734–752.
- Oyama T., Miyasita Y., Watanabe H., Shirai K.: The role of polyol pathway in high glucose-induced endothelial cell damages. Diabetes Res. Clin. Pract. 2006; 73, 227–234.
- Fujita T., Funako T., Hayashi H.: 8-Hydroxydaidzein, an Aldose Reductase Inhibitor from Okara Fermented with *Aspergillus* sp. HK-388. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2004; 68, 1588–1590.
- Tai S. S.-K., Lin Ch.-G., Wu M.-H., Chang T.-S.: Evaluation of Depigmenting Activity by 8-Hydroxydaidzein in Mouse B16 Melanoma Cells and Human Volunteers. Int. J. Mol. Sci. 2009; 10, 4257–4266.
- Xu B.-J., Jia X.-Q., Gu L.-J., Sung Ch.-K.: Review on the qualitative and quantitative analysis of the mycotoxin citrinin. Food Contr. 2006; 17, 271–285.
- Sankawa, U., Ebizuka, Y., Noguchi, H., Isikawa, Y., Kitaghawa, S., Yamamoto, Y., Kobayashi, T., Iitak, Y.: Biosynthesis of citrinin in *Aspergillus terreus*. Tetrahedron 1983; 39, 3583–3591.
- Hajjaj H., Klæbe A., Loret M., Goma G., Blanc, P. J., Francois J.: Biosynthetic Pathway of Citrinin in the Filamentous Fungus *Monascus ruber* as Revealed by <sup>13</sup>C Nuclear Magnetic Resonance. Appl. Environ. Microbiol. 1999; 65, 311–314.
- Devi P., D'Souza, L., Kamat, T., Rodrigues, C., Naik, Ch. G.: Batch culture fermentation of *Penicillium chrysogenum* and a report on the isolation, purification and antibiotic activity of citrinin. Indian J. Mar. Sci. 2009; 38, 38–44.
- Dong Y., Yang J., Ren X., Zhang H., He J.: New aldose reductase inhibitors N99-596 A and B from *Streptomyces*. J. Antibiot. 2005; 58, 737–739.
- Deruiter J., Jacyno J. M., Cutler H. G., Davis R. A.: Studies on aldose reductase inhibitors from fungi. 2. Moniliformin and small ring analogs. J. Enzym. Inhib. 1993; 7, 249–256.
- Chidananda C., Rao L. J. M., Sattur A. P.: Sclerotiorin, from *Penicillium frequentans*, a potent inhibitor of aldose reductase. Biotechnol. Lett. 2006; 28, 1633–1636.
- Rao S. K. C., Divakar S., Naveen Babu K., Appu Rao A. G., Karanth N. G., Sattur A. P.: Nigerloxin, a novel inhibitor of aldose reductase and lipoxygenase with free radical scavenging activity from *Aspergillus niger* CFR-W-105. J. Antibiot. 2003; 56, 789–793.
- Rao K. C. S., Divakar S., Srinivas M., Babu K. N., Karanth N. G., Sattur A. P.: Asperaldin, a new aldose reductase inhibitor from *Aspergillus niger* CFR-1046. I. Fermentation, isolation and characterization. J. Antibiot. 2003; 56, 173–176.

16. Nishikawa M., Tsurumi Y., Murai H., Yoshida K., Okamoto M., Takase S., Tanaka H., Hirota H., Hashimoto M., Kohsaka M.: WF-2421, a new aldose reductase inhibitor produced from a fungus, *Humicola grisea*. *J. Antibiot.* 1991; 44, 130–135.
17. Sun W. S., Lee H. S., Park J. M., Kim S. H., Yu J. H., Kim J. H.: YUA001, a novel aldose reductase inhibitor isolated from alkalophilic *Corynebacterium* sp. YUA25 II. Chemical modification and biological activity. *J. Antibiot.* 2001; 54, 827–830.
18. McTaggart S. J.: Isoprenylated proteins. *Cell. Mol. Life Sci.* 2006, 63, 255–267.
19. Wang C. Y., Liu P. Y., Liao J. K.: Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results. *Trends. Mol. Med.* 2008; 14, 37–44.
20. Dudakovic A., Wiemer A. J., Lamb K. M., Vonnahme L. A., Dietz S. E., Hohl R. J.: Inhibition of geranylgeranyl diphosphate synthase induces apoptosis through multiple mechanisms and displays synergy with inhibition of other isoprenoid biosynthetic enzymes. *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 2008; 324, 1028–1036.
21. Konya A., Jekkel A., Sutö J., Salat J.: Optimization of compactin fermentation. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 1998; 20, 150–152.
22. Shaligram N. S., Singh S. K., Singhal R. S., Szakacs G., Pandey A.: Effect of precultural and nutritional parameters on compactin production by solid-state fermentation. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2009; 19, 690–697.
23. Garrett I. R., Gutierrez G. E., Rossini G., Nyman J., McCluskey B., Flores A., Mundy, G. R.: Locally delivered lovastatin nanoparticles enhance fracture healing in rats. *J. Orthop. Res.* 2007; 25, 1351–1357.
24. Crick D. C., Andres D. A., Danesi R., Macchia M., Waechter C. J.: Geranylgeraniol overcomes the block of cell proliferation by lovastatin in C6 glioma cells. *J. Neurochem.* 1998; 70, 2397–2404.
25. Xia Z., Tan M. M., Wong W. W. L., Dimitroulakos J., Minden M. D., Penn L. Z.: Blocking protein geranylgeranylation is essential for lovastatin-induced apoptosis of human acute myeloid leukemia cells. *Leukemia* 2001; 15, 1398–1407.
26. Seenivasan A., Subhagar S., Aravindan R., Viruthagiri T.: Microbial production and biomedical applications of lovastatin. *Indian J. Pharmaceut. Sci.* 2008, 70, 701–709.
27. Manzoni M., Rollini M.: Biosynthesis and biotechnological production of statins by filamentous fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002; 58, 555–564.
28. Alberts A. W., Chen J., Kuron G., Hunt V., Huff J., Hoffman C., Rothrock J., Lopez M., Joshua H., Harris E., Patchett A., Monaghan R., Currie S., Stapley E., Albers-Schonberg G., Hensens O., Hirshfield J., Hoogsteen K., Liesch J., Springer J.: Mevinolin: A Highly Competitive Inhibitor of Hydroxymethylglutaryl-Coenzyme A Reductase and a Cholesterol Lowering Agent. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1980; 77, 3957–3961.
29. Yan J., Xu Y., Zhu C., Zhang L., Wu A., Yang Y., Xiong Z., Deng C., Huang X. F., Yenari M. A., Yang Y. G., Ying W., Wang Q.: Simvastatin Prevents Dopaminergic Neurodegeneration in Experimental Parkinsonian Models: The Association with Anti-Inflammatory Responses. *PLoS ONE* 2011, 6, e20945. <http://www.plosone.org>.
30. Kühn H., Belkner J., Zaiss S., Fährenklempner T., Wohlfeil S.: Involvement of 15-lipoxygenase in early stages of atherogenesis. *J. Exp. Med.* 1994; 179, 1903–1911.
31. Kelavkar U. P., Nixon J. B., Cohen C., Dillehay D., Eling T. E., Badr K. F.: Overexpression of 15-lipoxygenase-1 in PC-3 human prostate cancer cells increases tumorigenesis. *Carcinogenesis* 2002; 22, 1765–1773.
32. Jefferson Jr. W. E.: The isolation and characterization of asperenone, a new phenylpolyene from *Aspergillus niger*. *Biochemistry* 1967; 6, 3479–3484.
33. Yu J., Tamura G., Takahashi N., Arima K.: Asperyllone, a new yellow pigment of *Aspergillus awamori* and *Aspergillus niger*. *Agr. Biol. Chem.* 1967; 31, 831–836.
34. Ayer W. A., Muir D. J., Chakravarty P.: Phenolic and other metabolites of *Phellinus pini*, a fungus pathogenic to pine. *Phytochemistry* 1996; 42, 1321–1324.
35. Rao K. C., Divakar S., Appu Rao A. G., Karanth N. G., Suneetha W. J., Krishnakantha T. P., Sattur A. P.: Asperenone: an inhibitor of 15-lipoxygenase and of human platelet aggregation from *Aspergillus niger*. *Biotechnol. Lett.* 2002; 24, 1967–1970.
36. Chidananda C., Kumar C. M., Sattur A. P.: Strain improvement of *Aspergillus niger* for the enhanced production of asperenone. *Indian J. Microbiol.* 2008; 48, 274–278.
37. Chidananda C., Sattur A. P.: Sclerotiorin, a novel inhibitor of lipoxygenase from *Penicillium frequentans*. *J. Agr. Food Chem.* 2007; 55, 2879–2883.
38. Lucas E. M. F., Machado Y., Ferreira A. A., Dolabella L. M. P., Takahashi J. A.: Improved production of pharmacologically-active sclerotiorin by *Penicillium sclerotiorum*. *Trop. J. Pharmaceut. Res.* 2010; 9, 365–371.
39. Rao S. K. C., Divakar S., Naveen Babu K., Appu Rao A. G., Karanth N. G., Sattur A. P.: Nigerloxin, a novel inhibitor of aldose reductase and lipoxygenase with free radical scavenging activity from *Aspergillus niger* CFR-W-105. *J. Antibiot.* 2003; 56, 789–793.
40. Hasan H. A. H.: Production and Determination of Nigerloxin by *Aspergillus niger*. *Int. J. Agr. Biol.* 2007; 9, 315–318.
41. Chakradhar D., Javed S., Sattur P. A.: Studies on the production of nigerloxin using agro-industrial residues by solid-state fermentation. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2009; 36, 1179–1187.
42. Esposito F., Kharlamova T., Distinto S., Zinzula L., Cheng Y. C., Dutschman G., Floris G., Markt P., Corona A., Tramontano E.: Alizarine derivatives as new dual inhibitors of the HIV-1 reverse transcriptase-associated DNA polymerase and RNase H activities effective also on the RNase H activity of non-nucleoside resistant reverse transcriptases. *FEBS J.* 2011; 278, 1444–1457.
43. Kaul A., Maltese W. A.: Killing of Cancer Cells by the Photoactivatable Protein Kinase C Inhibitor, Calphostin C, Involves Induction of Endoplasmic Reticulum Stress. *Neoplasia* 2009; 11, 823–834.
44. Isel C., Ehresmann Ch., Marquet R.: Initiation of HIV Reverse Transcription. *Viruses* 2010; 2, 213–243.
45. Lai M. T., Munshi V., Touch S., Tynebor R. M., Tucker T. J., McKenna P. M., Williams T. M., DiStefano D. J.: Antiviral Activity of MK-4965, a Novel Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53, 2424–2431.
46. Demain A. L., Somkuti G. A., Hunter-Cavera J. C., Rossmore H. W.: Novel microbial products for medicine and agriculture. Netherlands: Elsevier, 1989.
47. Davidson R. N., Boerb M., Ritmeijer K.: Paromomycin. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2009; 103, 653–660.
48. Kitahara N., Haruyama H., Hata T., Takahashi S.: The structures of thielavins A, B and C. Prostaglandin synthetase inhibitors from fungi. *J. Antibiot.* 1983; 36, 599–600.
49. Sakemi S., Hirai H., Ichiba T., Inagaki T., Kato Y., Kojima N., Nishida H., Parker J. C., Saito T., Tonai-Kachi H., Volkenburg M. A., Yoshikawa N., Kojima Y.: Thielavins as glucose-6-phosphatase (G6Pase) inhibitors: producing strain, fermentation, isolation, structural elucidation and biological activities. *J. Antibiot.* 2002; 55, 941–951.
50. Mani N., Sanchet P., Jiang Z. D., McNaney C., DeCenzo M., Knight B., Stankis M., Kuranda M., Rothenstein D. M.: Screening systems for detecting inhibitors of cell wall transglycosylation in *Enterococcus*. *J. Antibiot.* 1998; 51, 471–479.
51. Chen J. L.-Y., Sperry J., Ip, N. Y., Brimble M. A.: Natural products targeting telomere maintenance. *Med. Chem. Commun.* 2011; 2, 229–245.
52. Rao K. V., Cullen W. P.: Streptonigrin, an antitumour substance. I. Isolation and characterization. *Antibiot. Annu.* 1959; 7, 950–953.
53. Société des usines chimiques de Rhône-Poulenc, GB Patent 872261, 1961, Chem. Abstr. 1961; 55, 25158a.
54. Kudrina E. S., Ol'khovtova O. L., Murav'eva L. I., Gauze G. F.: Systematic position and variability of the product of antitumor antibiotic bruneomycin. *Antibiotiki* 1966; 11, 400–405.
55. Brazhnikova M. G., Ponomarenko I. N., Kovsharova E. B., Kruglyak E. B., Proshlyakova V. V.: Study of bruneomycin formed by *Actinomyces albus* var. *bruneomycini* and its identification with streptonigrin. *Antibiotiki* 1968; 13, 99–102.
56. Bolzán A. D., Bianchi M. S.: Genotoxicity of streptonigrin: a review. *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* 2001; 488, 25–37.
57. Mesak L. R., Qi S., Villanueva I., Miao V., Davies J.: *Staphylococcus aureus* promoter-lux reporters for drug discovery. *J. Antibiot. (Tokyo)* 2010; 63, 492–498.

58. **Serova M., Ghoul A., Benhadji K. A., Cvitkovic E., Faivre S., Calvo F., Lokiec F., Raymond E.:** Preclinical and clinical development of novel agents that target the protein kinase C family. *Semin. Oncol.* 2006; 33, 466–478.
59. **Martiny-Baron G., Fabbro D.:** Classical PKC isoforms in cancer. *Pharmacol. Res.* 2007; 55, 477–486.
60. **Mackay H. J., Twelves C. J.:** Targeting the protein kinase C family: are we there yet? *Nat. Rev. Canc.* 2007; 7, 554–562.
61. **Kaul A., Maltese W. A.:** Killing of Cancer Cells by the Photoactivatable Protein Kinase C Inhibitor, Calphostin C, Involves Induction of Endoplasmic Reticulum Stress. *Neoplasia* 2009; 11, 823–834.
62. **Kobayashi E., Ando K., Nakano H., Iida T., Ohno H., Morimoto M., Tamaoki T.:** Calphostins (UCN - 1028), novel and specific inhibitors of protein kinase C. I. Fermentation, isolation, physico-chemical properties and biological activities. *J. Antibiot.* 1989; 42, 1470–1474.
63. **Olivo M., Ali-Seyed M.:** Apoptosis signalling mechanisms in human cancer cells induced by calphostin-PDT. *Int. J. Oncol.* 2007; 30, 537–548.
64. **Chiarini A., Whitfield J. F., Pacchiana R., Armato U., Dal Pra L.:** Photoexcited calphostin C selectively destroys nuclear lamin B1 in neoplastic human and rat cells – a novel mechanism of action of a photodynamic tumor therapy agent. *Biochim. Biophys. Acta* 2008; 1783, 1642–1653.
65. **Guo B., Hembruff S. L., Villeneuve D. J., Kirwan A. F., Parissenti A. M.:** Potent killing of paclitaxel- and doxorubicin-resistant breast cancer cells by calphostin C accompanied by cytoplasmic vacuolization. *Breast Canc. Res. Treat.* 2003; 82, 125–141.
66. **Trindade-Silva A. E., Lim-Fong G. E., Sharp K. H., Haygood M. G.:** Bryostatins: biological context and biotechnological prospects. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2010; 21, 834–842.
67. **Wender P. A., Baryza J. L., Brenner S. E., DeChristopher B. A., Loy B. A., Schrier A. J., Verma V. A.:** Design, synthesis, and evaluation of potent bryostatin analogs that modulate PKC translocation selectivity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2011; 108, 6721–6726 (<http://www.pnas.org>).
68. **Gully Ch. P., Zhang F., Chen J., Yeung J. A., Velazquez-Torres G., Wang E., Yeung S.-Ch. J., Lee M.-H.:** Antineoplastic effects of an Aurora B kinase inhibitor in breast cancer. *Mol. Canc.* 2010; 9(42). <http://www.molecular-cancer.com>
69. **Ayer S. W., McInnes A. G., Thibault P., Walter J. A., J. L. Doull Parnell, T., Vining L. C.:** Jadomycin, a novel 8i-benz[6]oxazolo[3,2-*f*]phenanthridine antibiotic from *Streptomyces venezuelae*ISP5230. *Tetrahedron Lett.* 1991; 32, 6301–6304.
70. **Fu D.-H., Jiang W., Zheng J.-T., Zhao G.-Y., Li Y., Yi H., Li Z.-R., Jiang J.-D., Yang K.-Q., Wang Y., Si S.-Y.:** Jadomycin B, an Aurora-B kinase inhibitor discovered through virtual screening. *Mol. Canc. Therapeut.* 2008; 7, 2386–2393.
71. **Jakeman D. L., Bandi S., Graham C. L., Reid T. R., Wentzell J. R., Douglas S. E.:** Antimicrobial Activities of Jadomycin B and Structurally Related Analogues. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53, 1245–1247.
72. **Aly A. H., Debbab A., Edrada-Ebel R. A., Müller W. E. G., Kubbutat M. H. G., Wray V., Ebel R., Proksch P.:** Protein kinase inhibitors and other cytotoxic metabolites from the fungal endophyte *Stemphylium botryosum* isolated from *Chenopodium album*. *Mycosphere* 2010; 1, 153–162.