

# BIOAKTYWNE IZOFLAWONOIDY: DAIDZEINA, DAIDZYNA I PUERARYNA Z OŁOWNIKA ŁATKOWATEGO (PUERARIA LOBATA, KUDZU).

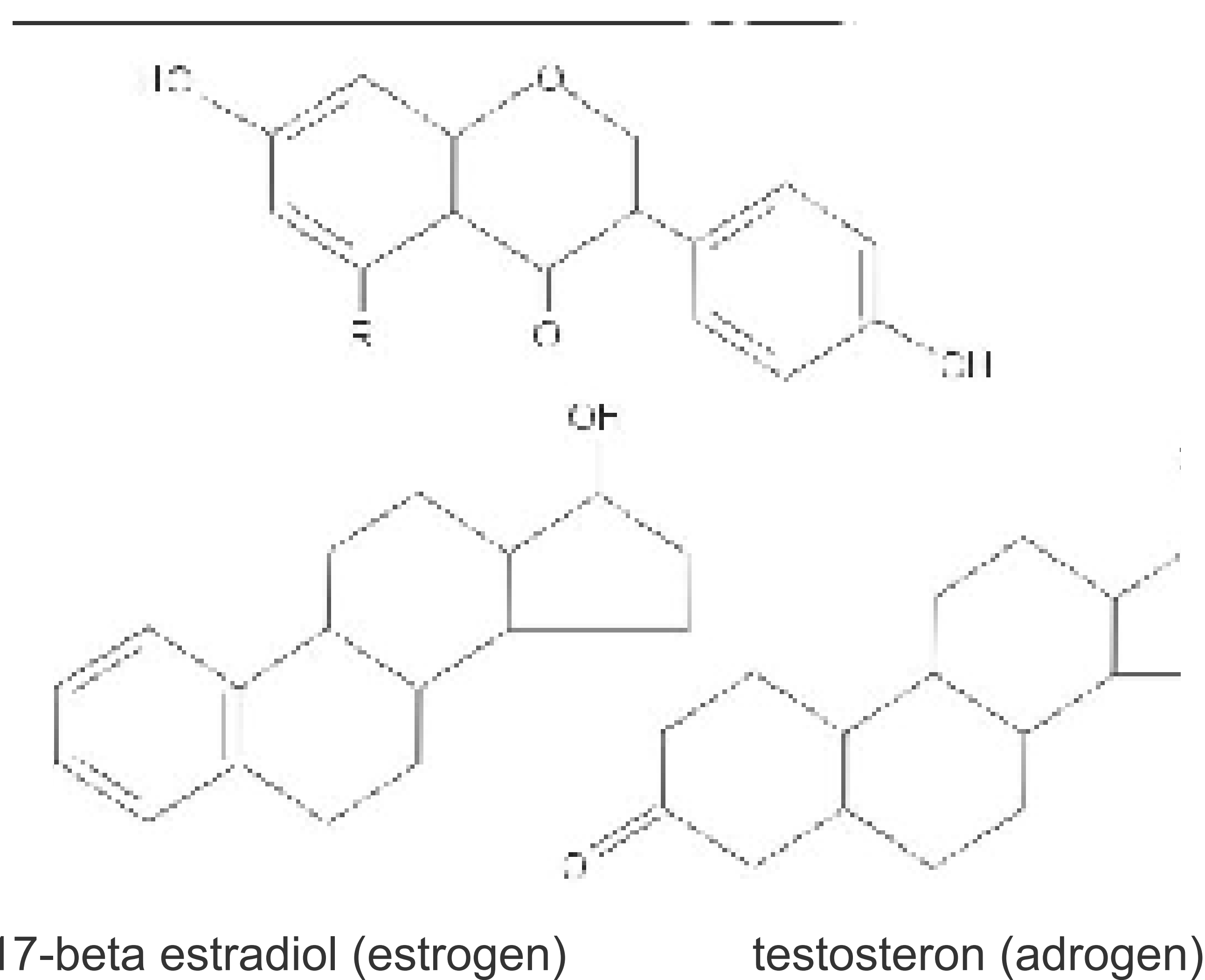
Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej  
Akademia Medyczna we Wrocławiu  
51 386 Wrocław, ul Chałubińskiego 10  
Dr Jadwiga Pietkiewicz

Rośliny są bogatym źródłem licznych substancji o szerokim zakresie aktywności biologicznej: od toksyn i karcynogenów do związków o dużej skuteczności leczniczej. Od wielu lat uwagę badaczy przykuwają izoflawonoidy pochodzenia roślinnego, ze względu na ich własności antynowotworowe, antyoksydacyjne, antybakteryjne, przeciwgorączkowe, hipotensyjne, spazmolityczne i inne.

Coraz więcej ośrodków na świecie - w Europie, Stanach Zjednoczonych, Kanadzie, Japonii, Chinach zajmuje się szczegółowo poznaniem molekularnych mechanizmów działania związków izoflawonoidowych na poziomie komórkowym oraz ich znaczeniem w leczeniu różnych schorzeń. Zwrócono między innymi uwagę na znaczne różnice w zachorowalności na raka piersi i raka prostaty w populacji azjatyckiej ( Japonia i Daleki Wschód ) i zachodniej ( Europa, Ameryka Północna ) i przypisano to zróżnicowaniu nawyków dietetycznych. Tradycyjnie mieszkańcy Dalekiego Wschodu i Japonii, spożywają duże ilości pokarmów roślinnych, o dużej zawartości m.in. difenolowych fitoestrogenów : daidzeiny, daidzyny i ich pochodnych. W surowicy krwi Japończyków jest ok. 15 razy wyższe stężenie tych izoflawonoidów niż u Brytyjczyków, co wyraźnie wynika z różnic w sposobie odżywiania. [1]

Popularnym źródłem roślinnych izoflawonoidów jest soja ( Glycine max Merrill), ale równie bogaty w nie jest korzeń ołownika łatkowatego (Pueraria lobata, kudzu), zwłaszcza, że zawiera on znacznie więcej wartościowego izoflawonoidu pueraryny ( 80% całej puli izoflawonoidów tej rośliny).

## Chemiczna struktura Daidzeiny (R=H)



Ze względu na podobieństwo strukturalne do hormonów płciowych, daidzeina może wiązać się z receptorami estrogenów lub androgenów na powierzchni komórek wyposażonych w te receptory. W stężeniach fizjologicznych (10 nanoM-20 mikroM) genisteina zachowuje się jako agonista estrogenów. Jednakże wzrost jej poziomu surowicy powyżej 10 mikroM powoduje zahamowanie wzrostu guza nowotworowego [2]. Substancja ta wiążąc się z receptorami androgenów hamuje aktywność hormonów męskich - testosteronu, dihydrotestosteronu, co znacznie obniża stymulujący wpływ androgenów na rozwój raka prostaty. W obecności genisteiny obserwuje się spadek poziomu PSA ( Prostate-specific antigen- obecnego w surowicach pacjentów jako marker nowotworowy), aż do 50-80%[3]. Podobny efekt wywiera estradiol.

W zakresie stężeń w surowicy przekraczających poziom fizjologiczny genisteina zahamowuje nawet w 50% tempo wzrostu komórkowego - proliferację komórek wywołaną przez np. chemiczne czynniki rakotwórcze obecne w skażonym środowisku. Wiele z tych czynników wywołuje na poziomie molekularnym wzrost aktywności kinaz białkowych tyrozyno-specyficznych. Enzymy te ważne są w przekazywaniu informacji ze środowiska do wnętrza komórki w celu uzyskania odpowiedniego efektu metabolicznego. Aktywność tych kinaz pobudzana jest również przez różne czynniki wzrostu - EGF, PDGF, ILGF, FGF ( nabłonkowy, pochodzenia płytkowego, insulinopodobny, fibroblastów)- odpowiedzialne za stymulację procesów proliferacji różnego typu komórek. Jest stwierdzona duża korelacja pomiędzy działaniem retrowirusów - promujących transformację nowotworową komórek, a aktywnością kinaz tyrozyno-specyficznych. W zakresie stężeń wyższych niż fizjologiczne, genisteina i daidzeina potrafią hamować aktywność tych kinaz stając się istotnymi czynnikami antynowotworowymi [4],[5].

Genisteina jest także skutecznym inhibitorem aktywności topoisomerazy I i II DNA[6]. Dochodzi wskutek tego do zahamowania procesu replikacji DNA, a w dalszej kolejności spada tempo powielania materiału genetycznego w procesie podziałów komórkowych. Izoflawonoid ten reguluje cykl komórkowy ,co prowadzi do blokowania procesu podwajania DNA, a więc i na tym poziomie zostaje zahamowany proces podziału komórek i wzrost ich populacji [6].

W prawidłowo funkcjonującym organizmie czas życia komórek jest ściśle określony. Starsze komórki obumierają, ale populacja regularnie odnawia się. O tempie tego procesu decyduje zjawisko apoptozy czyli programowanej śmierci komórki. Proces ten musi być precyzyjnie regulowany, gdyż zachwianie kontroli nad nim może spowodować, że komórki nabędą cech nieśmiertelności, tak jak to ma miejsce w guzach nowotworowych. Różne substancje mogą blokować apoptozę - są to tzw. czynniki cytotoksyczne. Okazuje się , że izoflawonoidy zawarte w ekstraktach korzenia Kudzu chronią komórki przed związkami indukującymi zjawisko apoptozy[7].

Ważnym czynnikiem rozrostu tkanki nowotworowej jest dobre unaczynienie. Nowotworzeniu towarzyszy zjawisko angiogenezy - rozwój sieci naczyń krwionośnych, zapewniających dostarczenie tej tkance tlenu i innych czynników ważnych w utrzymaniu procesów życiowych. Angiogeneza jest silnie hamowana przez genisteinę, ponieważ zmniejsza ona trzykrotnie tempo rozwoju komórek śródbłonna wyściełającego ściany tworzonych naczyń, a ponadto stymuluje degradację białek macierzy zewnątrzkomórkowej w środowisku otaczającym nowopowstałe naczynia. Nie ma wtedy szkieletu utrzymującego strukturę naczyń w tkance[8],[9].

Ze strukturą chemiczną izoflawonoidów zawartych w kudzu są ściśle związane ich własności antyoksydacyjne. Obecność wiązań podwójnych w tych difenolowych strukturach sprzyja przechwytywaniu reaktywnych form tlenu[10]. Ta zdolność zmiatania wolnych rodników pozwala chronić elementy budulcowe i funkcjonalne komórek przed oksydacyjnym działaniem bardzo aktywnych utleniaczy. Np. w stanach zapalnych zaktywowane komórki zapalne wytwarzają oksydanty typu HOCL, HOBr, ONOO(-), z którymi genisteina reaguje, tworząc pochodne chloranowe, brominowe, nitrozowe. Uważa się, że te modyfikacje chemiczne mogą zasadniczo zmieniać jej aktywność biologiczną, a jednocześnie struktury komórek nie są narażone na utlenianie[11]. Istotna jest tutaj ochronna rola genisteiny w chorobach zapalnych.

Budowa izoflawonoidów - daidzeiny, daidzyny, pueraryny wskazuje na ich hydrofobowy charakter (związki mające powinowactwo do środowiska niepolarnego). To wpływa na oddziaływanie tych związków z błonami komórkowymi. Środowisko komórki oddzielone jest od otoczenia błoną komórkową, zbudowaną z dwuwarstwy lipidowej. Struktura tej błony powinna być taka, aby komórka mogła mieć prawidłowy kształt, wytrzymałość mechaniczną, nie przepuszczała do wnętrza komórki wszystkich substancji z otoczenia. Kontakt z oksydantami takimi jak wolne rodniki naraża składniki błony na utlenienie, a wtedy dochodzi do wzrostu płynności błon. To osłabia mechanicznie tę strukturę, zwiększa jej przepuszczalność, prowadzi do pęknięcia błon. Izoflawonoidy mają właściwość podobną do cholesterolu i witaminy E- jako substancje hydrofobowe wiążą się z rdzeniem hydrofobowym błony komórkowej, co wzmacnia jej stabilność i radykalnie zmniejsza płynność. Obecność tych związków w błonie stanowi przestrzenną przeszkodę dla wnikania wolnych rodników do komórki, a efekt ten zmniejsza kinetykę wolnorodnikowych reakcji red-ox wewnątrz komórki[12].

Utleniacze tak silne jak reaktywne formy tlenu mają różnorodny wpływ na wewnątrzkomórkowe procesy metaboliczne. Mogą prowadzić do powstawania utlenionych pochodnych białek, cukrów, lipidów, kwasów nukleinowych. Komórka wytwarza mechanizmy enzymatyczne, czuwające nad utrzymaniem równowagi w przebiegu procesów oksydacyjno-antyoksydacyjnych. Izoflawonoidy z ekstraktów korzenia kudzu zwiększają aktywność dysmutazy ponadtlenkowej - enzymu bardzo ważnego w przemianie wolnorodnikowych form tlenu w mniej agresywne utleniacze. Dzięki temu m.in. obniża się poziom nadtlenków lipidowych w lipoproteinach LDL - struktur odpowiedzialnych za transport cholesterolu z wątroby do komórek tkanek pozawątrobowych. Zmienione oksydacyjnie LDL stanowią poważny czynnik miażdżycogeny, ponieważ nie są wiązane przez swoiste receptory komórkowe i z tego powodu cholesterol w nich zawarty pozostaje w układzie krążenia. Takie struktury wychwytywane są w naczyniach przez makrofagi, które po przeładowaniu cholesterolem pękają. Dochodzi do tworzenia w naczyniach krwionośnych blaszek miażdżycowych zawierających cholesterol, sole wapnia, fragmenty nierozpuszczalnych białek. Grozi to zwężeniem i w końcu zamykaniem światła naczyń. Izoflawonoidy takie jak genisteina, daidzeina, pueraryna mają właściwości antymiażdżycowe [13]. Genisteina i daidzeina chronią przed rozwojem choroby wieńcowej także i dlatego, że pod ich wpływem zmniejsza się szybkość syntezy cholesterolu w wątrobie, sekrecja lipoprotein VLDL z tej tkanki- prekursorów LDL [14]. Daidzeina i pueraryna z korzenia kudzu, hamują agregację płytek krwi w naczyniach krwionośnych, chronią zatem przed śmiercią wywołaną przez zjawisko trombozy w płucach [15]. Mogą one zmniejszyć lepkość krwi i dzięki temu poprawiać mikrokążenie [16].

Znane jest także działania antybakteryjne i przeciwgrzybicze izoflawonoidów. Daidzeina, pueraryna oraz ich pochodne hamują aktywność beta-galaktozydazy bakterii z grupy Streptomyces. Zahamowanie aktywności tego enzymu uniemożliwia komórkom bakteryjnym obronę przed antybiotykami[17]. W pracach Barbary Thiem i Olgi Goślińskiej z Akademii Medycznej w Poznaniu pokazano hamujący wpływ pueraryny, daidzeiny, daidzyny z korzenia kudzu na wzrost komórek szczepów bakterii *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* i grzybów *Candida albicans* i *Aspergillus niger*. [18]

Do tych różnorodnych efektów działania izoflawonoidów typu genisteiny, pueraryny, daidzeiny, daidzyny dodać należy zdumiewającą skuteczność tych substancji w leczeniu uzależnienia alkoholowego. Takie własności związków zawartych w korzeniu kudzu zna medycyna dalekowschodnia od czasów starożytnych. W Europie i Ameryce Północnej zainteresowanie tego rodzaju działaniem ekstraktu z *Pueraria lobata* obserwuje się od kilkunastu lat [19],[20]. Etanol łatwo wchłania się z przewodu pokarmowego do krążenia i jest rozprowadzany równomiernie w płynach wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych. Ponad 70% metabolizowane jest w wątrobie pod wpływem dehydrogenazy alkoholowej do aldehydu octowego:



Powstający aldehyd jest utleniany w mitochondriach przez dehydrogenazę aldehydową do kwasu octowego:



Około 25% etanolu rozkłada się w mikrosomalnym układzie oksydacyjnym: oksydazy cytochromowej P450, a resztę wydalają się przez płuca i nerki w formie niezmienionej [21].

Aldehyd octowy jest bardziej toksyczny od etanolu: wywołuje objawy zatrucia. Ma on silne działanie obwodowe - rozszerza naczynia krwionośne (następuje spadek ciśnienia tętniczego), rozszerza małe naczynia obwodowe (zaczerwienienie twarzy i kończyn) oraz wywołuje uczucie duszności, zaburzenia rytmu serca, nudności, wymioty. Objawy te nasilają się po zahamowaniu dehydrogenazy aldehydowej. Inhibitorem tego enzymu jest disulfiram (in. Esperal, antabus, antikol), lek stosowany w konwencjonalnym leczeniu choroby alkoholowej. U Azjatów i Indian Południowoamerykańskich występuje defekt genetyczny dehydrogenazy aldehydowej i to jest u nich przyczyną silnych objawów zatrucia po wypiciu alkoholu.

Długotrwałe spożywanie etanolu prowadzi do uzależnienia psychicznego. W centralnym układzie nerwowym dochodzi do stymulacji procesów wywołujących subiektywne doznanie przyjemności, zmniejszenie poczucia strachu, efekt antystresowy. Działanie to dotyczy systemu nagrody w mózgu i odbywa się za pośrednictwem neurotransmiterów - dopaminy i serotoniny- poprzez ich oddziaływanie z receptorami GABA- ergicznymi w neuronach. Receptory te redukcją transmisję sygnału wywołanego przez bodziec zewnętrzny (niwelacja objawów stresu). Pośredniczą w tym neuroaktywne steroidy jako agoniści receptorów GABA-ergicznymi. Te neuroaktywne steroidy są produktami ubocznej przemiany serotoniny, dopaminy i aldehydu octowego powstałego z etanolu [22]. Steroidy te mogą stymulować również receptory opiatowe w mózgu[23]. Jest to ogniwo łączące działanie etanolu i opioidów i ono odpowiada za pobudzanie systemu nagrody w centralnym układzie nerwowym przez etanol, morfinę i inne substancje uzależniające. Antagonista receptorów opioidowych, naltrekson, zmniejsza konsumpcję etanolu, gdyż hamuje wpływ alkoholu na pobudzenie układu nagrody w mózgu, nasila jednak efekty niepożądane- uszkodzenia wątroby. Różne konwencjonalne metody farmakologicznego leczenia uzależnienia alkoholowego dają jednak umiarkowane efekty, przy czym towarzyszą temu skutki uboczne [21].

Zawarte w korzeniu kudzu izoflawonoidy - pueraryna, daidzeina, daidzyna nie wykazują toksycznych skutków działania, a efektywnie zmniejszają potrzebę picia alkoholu [19],[24]. Mechanizmy działania tych substancji na przemianę etanolu badane są od niedawna. Daidzeina z korzenia Pueraria hamuje aktywność dehydrogenazy alkoholowej, a ich pochodne 7-O-glikozyłowe działają hamująco na dehydrogenazę aldehydową [25]. Również daidzyna okazała się inhibitorem dehydrogenazy aldehydowej, rozkładającej aldehyd octowy [26]. Ponieważ enzym ten uczestniczy także w przemianie serotoniny i dopaminy w mózgu, zatem daidzeina hamuje metabolizm obu tych neurotransmiterów w kierunku neuroaktywnych steroidów. Wskutek tego serotonina i dopamina pozostają dłużej w krążeniu i wywołują naturalną stymulację układu nagrody - nie ma potrzeby sięgania po alkohol [27].

Taki mechanizm wskazuje też na możliwość wykorzystania izoflawonoidów z kudzu do zwalczania uzależnienia nie tylko od alkoholu lecz od narkotyków i nikotyny. Etanol jest cytotoksyczny dla komórek CUN. W jego obecności dochodzi do apoptozy -obumierania tych komórek, wskutek indukowania ekspresji kaspazy 3 na szlaku aktywującym apoptozę. Izoflawonoidy z ekstraktów korzenia kudzu znacznie zmniejszają ilość apoptycznych cech w komórkach[28]. Ponadto w stanach zatrucia alkoholem dochodzi do zahamowania przez etanol procesu proliferacji komórek astrogleju w CUN, co jest przyczyną mikroencefalii u dzieci matek-alkoholiczek. Takie mikro-uszkodzenia układu nerwowego są przyczyną pewnego upośledzenia funkcji umysłowych. Okazuje się, że preparaty z korzenia kudzu chronią proces proliferacji tego typu komórek [29].

#### **Podsumowanie:**

Pueraryna i daidzyna- izoflawonoidowe składniki Pueraria lobata (kudzu) mają bardzo szerokie spektrum działania leczniczego. Roślina ta może służyć jako źródło naturalnych czynników o własnościach antykarcinogennych, antybakteryjnych, przeciwzapalnych, antyoksydacyjnych.

#### **Piśmiennictwo:**

- 1.Pumford S.L. et al.,Am.Clin.Biochem. 2002, 39(3):281-92.
- 2.de Lemos M.L. et al.,Ann.Pharmacotherapy 2001,35:118-120.
3. Rosenberg Zand et al, Clinica Chimica Acta, 2002, 317 (17-26)
- 4.Akiyama T. et al.,J.Biol.Chem.1987,262(12):5592-98.
- 5.Shulze-Mosgan M.H. et al.,Eur.J.Cancer 1998,34(9):1425-31
- 6.Birt D.F. et al., Pharmacol.Ther. 2001,90(23):157-77.
- 7.Jang M.H. et al.,Jpn.J.Pharmacol. 2001,87(40):338-42.
- 8.Kruse F.E. et al.,Ophtalmologie 1997,94:152-6.
- 9.Rohrschneider J.M. et al.,Exp.Eye Res. 2000,71(5):483-7.
- 10.Bartosz W.,Druga twarz tlenu, PWN Warszawa 1995.
- 11.Boersino B.J. et al., Mutat.Res. 2001,480-481:121-7.
- 12.Arora A. et al., Arch.Biochem.Biophys. 2000,373(1):102-9.
- 13.Chen J. et al.,Curr.Atheroscler.Rep. 1999,3:210-14.
- 14.Lee J.S. et al.,Complementary and Alternative Medicine 2002,2:12.
- 15.Choo M.K. et al., Biol.Pharm.Bull. 2002,25(10):1328-32.
- 16.Ren P. et al., PubMed
- 17.Hazato T. et al., J.Antibiot. 1979,32(3):217-22.
- 18.Tiem Barbara, Akademia Medyczna, Poznań
- 19.Keung W.M.,Vallee B.L.,Phytochemistry 1998,47(4):499-506.
- 20.Lin R.C.,Li T.K.,Am.J.Clin.Nutr. 68(6):15125-153.
- 21.Kostowski W.,Podstawy Farmakologii,PZWL Warszawa ,2001.
- 22.MegaB.T. et al., Arch.Pharmacol. 2002,366(4):319-26.
- 23.Keung W.M.,Biochemistry 1998,95(5):2198-2203.
- 24.Keung W.M.,Vallee B.L., Proc.Natl Acad.Sci.USA 1993,90:10008-12.
- 25.Keung W.M.,Alkohol Clin.Exp,Res. 1993,17(6):1254-60.
- 26.Keung W.M.Chem.Biol.Interact. 2001,130-131(1-3):919-30.
- 27.Rezwani Amir, Univ. North Carolina, USA
- 28.Jang M.H. et al.,Jpn.J.Pharmacol. 2002,88:355-58.
- 29.Jang M.H. et al.,Jpn.J.Pharmacol. 2001,87(4):338-42

Strona internetowa jest własnością firmy Biopol.

Nie wolno przedrukowywać ani korzystać bez pisemnej zgody firmy czy autorów artykułów.