

Urszula Gawlik-Dziki<sup>1</sup>, Michał Świeca<sup>1</sup>, Dariusz Dziki<sup>2</sup>,  
Justyna Tomiło<sup>2</sup>, Barbara Baraniak<sup>1</sup>

## LIŚCIE KOMOSY RYŻOWEJ (*CHENOPODIUM QUINOA* WILLD.) JAKO ŹRÓDŁO NATURALNYCH INHIBITORÓW OKSYDAZY KSANTYNOWEJ

<sup>1</sup>Katedra Biochemii i Chemii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

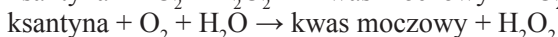
<sup>2</sup>Katedra Techniki Ciepłej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Kierownik: prof. dr hab. B. Baraniak

*Celem pracy było określenie zawartości polifenoli oraz biodostępności, bioprzyswajalności i bioefektywności in vitro inhibitorów oksydazy ksantynowej z liści komosy ryżowej (*Chenopodium quinoa* Willd.). Liście komosy ryżowej stanowią doskonale źródło biodostępnych i bioprzyswajalnych in vitro akompetycyjnych inhibitorów oksydazy ksantynowej. Mechanizm działania inhibitorów określono metodą Lineweavera-Burke'a.*

Hasła kluczowe: oksydaza ksantynowa, inhibicja, związki fenolowe, komosa ryżowa  
Key words: xanthine oxidase, inhibition, phenolic compounds, quinoa

Oksydaza ksantynowa (XO, EC 1.17.3.2), katalizuje utlenienie hipoksantyny i ksantyny do kwasu moczowego, przebiegające z wytworzeniem rodnika ponadlenkowego i nadtenku wodoru zgodnie z równaniem:



W konsekwencji OX jest uznawana za jedno z najważniejszych biologicznych źródeł reaktywnych form tlenu (RFT) uczestniczących w uszkodzeniach oksydacyjnych komórek prowadzących do występowania stanów patologicznych takich jak zapalenie, nowotwory itp. (1). Nadmierna aktywność XO leży u podłoża chorób przewlekłych związanych z zaburzeniami metabolizmu kwasu moczowego: hiperurykemii, dny moczanej oraz zespołu *Nescha-Nyhana*. Niekorzystne działanie oksydazy ksantynowej może prowadzić do uszkodzenia nerek, miażdżycy i nadciśnienie tętniczej a także być pośrednią przyczyną otyłości (2, 3, 4).

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie tradycyjnymi, ludowymi i lokalnymi składnikami diety, których spożywanie wiąże się z obniżeniem ryzyka wystąpienia tzw. chorób cywilizacyjnych. Jedną z ciekawszych roślin, która w przyszłości może odegrać niebagatelną rolę w funkcjonalnym żywieniu jest komosa ryżowa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Komosa ryżowa, szerzej znana jako quinoa (/ˈkiːn.wa:/ lub /ˈkiːno.wa/), jest rośliną uprawianą w Ameryce Południowej od co najmniej 5 tysięcy lat (5). W Europie jest dość słabo znana i rozpowszechniona, choć ostatnio zyskuje na popularności dzięki coraz większemu zainteresowaniu produktami

„typu bio”. W technologii żywności najczęściej wykorzystywane są nasiona komosy, niewiele jest natomiast doniesień na temat prozdrowotnych właściwości liści tego pseudozboża. Wstępne badania wykazały, że zawierają one biodostępne przeciwutleniacze, działają przeciwnowotworowo oraz przeciwzapalnie (6). Celem pracy było określenie zdolności do hamowania aktywności oksydazy ksantynowej przez ekstrakty z liści komosy ryżowej oraz określenie mechanizmu ich działania.

## MATERIAŁY I METODY

Materiałem były liście komosy ryżowej (*Chenopodium Quinoa* Willd) zebrane po 90 dniach vegetacji od momentu wysiania do gruntu (01.05.2011r), wysuszone w temperaturze 50°C przez 12 godzin i sproszkowane. Z materiału przygotowano następujące ekstrakty: 1) ekstrakt buforowy (B), zawierający związki hydrofilne, potencjalnie biodostępne, 2) ekstrakty otrzymane podczas trawienia *in vitro* (T), zawierające związki biodostępne *in vitro*, 3) ekstrakty otrzymane podczas symulowanego wchłaniania (W), zawierające związki potencjalnie bioprzyswajalne. Próby przygotowano zgodnie z procedurą opisaną w literaturze (7, 8). Całkowitą zawartość związków fenolowych (TPC), flawonoidów (TFC) i fenolokwasów (TPA) oznaczono zgodnie z procedurami opisanymi w literaturze (9, 10, 11). Zdolność do hamowania aktywności oksydazy ksantynowej określono bazując na metodzie opisanej przez Juntachote i Bernghower (12). Współczynniki biodostępności (BAC), bioprzyswajalności (BAV) i bioefektywności (BEF) inhibitorów OX wyznaczono matematycznie według następujących równań:

$$BAC = A_B / A_T \quad (1)$$

$$BAV = A_T / A_W \quad (2)$$

$$BEF = A_B / A_T \quad (3)$$

Gdzie:  $A_B$  - aktywność ekstraktu buforowego,  $A_T$  - aktywność ekstraktu otrzymanego po trawieniu *in vitro*,  $A_W$  - aktywność ekstraktu otrzymanego po wchłanianiu *in vitro*.

Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe oraz przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między średnimi określono testem *Tuckey'a*. Przyjęto poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Liście komosy ryżowej były bogatym źródłem hydrofilnych związków fenolowych. Warunki panujące podczas trawienia *in vitro* spowodowały spadek ich zawartości (na skutek zmiennych warunków pH i/lub interakcji z innymi składnikami). Podkreślić należy, że około 80% związków fenolowych okazało się bioprzyswajalne w warunkach *in vitro*. Trawienie *in vitro* spowodowało uwolnienie flawonoidów. Na uwagę zasługuje fakt, bioprzyswajalność *in vitro* przekraczała 50% w przypadku flawonoidów i 30% w przypadku fenolokwasów (tab. I)

Tab e l a 1. porównanie zawartości związków fenolowych (tpa), flawonoidów (tfc) i fenolokwasów (tpa) w ekstraktach z liści komosy ryżowej

Table 1. comparison of total phenolics (tpc), flavonoids (tfc) and phenolic acids (tpa) content in extracts from quinoa leaves

Próba	TPC [mg GAE/g s.m.]*	TFC [mgQE/g.s.m.]**	TPA [µg CAE/ g.s.m.]***
Ekstrakt buforowy	63,1 <sup>a</sup> ± 0,15	20,9 <sup>a</sup> ± 0,11	5,9 <sup>a</sup> ± 0,03
Ekstrakt po trawieniu <i>in vitro</i>	38,7 <sup>b</sup> ± 0,11	23,8 <sup>b</sup> ± 0,09	3,85 <sup>b</sup> ± 0,02
Ekstrakt po wchłanianiu <i>in vitro</i>	50,1 <sup>c</sup> ± 0,18	14,4 <sup>c</sup> ± 0,09	1,95 <sup>c</sup> ± 0,01

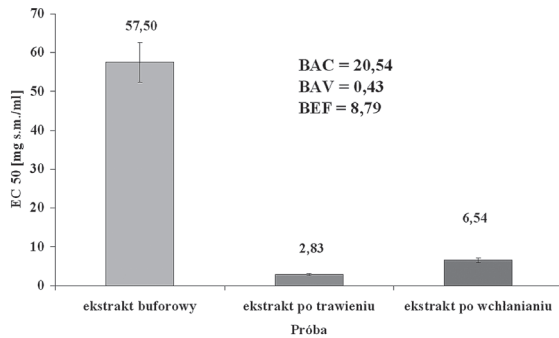
\*ekwiwalent kwasu galusowego,\*\* ekwiwalent kwercetyny,\*\*\* ekwiwalent kwasu kawowego,

\*gallic acid equivalent, \*\*quercetin equivalent, \*\*\* caffeic acid equivalent

Liście komosy ryżowej zawierały hydrofilne, potencjalnie biodostępne inhibitory OX. Trawienie w symulowanym przewodzie pokarmowym spowodowało uwolnienie związków aktywnych. Były one w ponad 40% przyswajalne w warunkach *in vitro*. Uwolnione podczas trawienia i przyswajalne *in vitro* inhibitory OX charakteryzowały się wysoką bioefektywnością (BEF = 8,79). Na ryc. 1 przedstawiono wartości EC50 oraz wartości współczynników opisujących biodostępność, bioprzyswajalność i bioefektywność. Podkreślić należy bardzo wysoką biodostępność *in vitro* naturalnych inhibitorów OX. Wskazywać może ona na wysoką skuteczność tych związków, niemniej jednak potwierdzenie tej tezy wymaga dalszych badań.

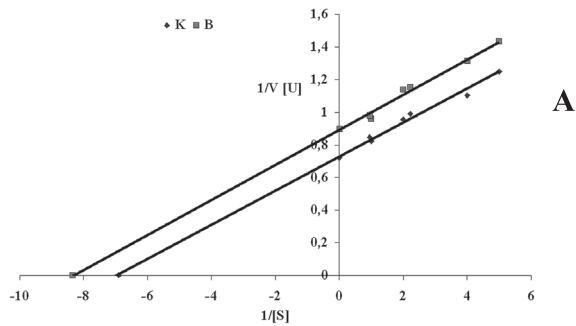
Mechanizm działania inhibitorów OX określono stosując metodę *Lineweaver-Burke'a*. Na podstawie przebiegu krzywych stwierdzono, że działają one jako inhibitory akompetycyjne (ryc. 2 - 4).

Podstawowym czynnikiem zmniejszającym stężenie kwasu moczowego w surowicy krwi, oprócz diety ubogopurynowej, jest hamowanie aktywności oksydazy ksantynowej. Najczęściej stosowanym w medycynie inhibitorem OX jest allopurynol (analog puryny, inhibitor kompetycyjny), może on jednak wywoływać niepożądane skutki uboczne. Nowym lekiem zmniejszającym hiperurykemię jest febukostat (Adenuric). Do najczęstszych objawów niepożądanych należy zwiększenie stężenia aminotrasferaz, lek ten nie jest też zalecany w zastoinowej niewydolności krążenia oraz u chorych z chorobą wieńcową (13). Aktualne badania potwierdzają zdolność ekstraktów roślinnych do hamowania aktywności oksydazy ksantynowej (14,15), a tym samym dowodzą, iż preparaty roślinne stanowią mogą alternatywę dla leków powstających na drodze syntezy chemicznej. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, iż preparaty roślinne, w przeciwieństwie do leków syntetycznych, nie powodują negatywnych dla organizmu skutków ubocznych. Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, iż liście komosy ryżowej, dotychczas traktowane raczej jako surowiec odpadowy, mogą być wartościowym surowcem dla przemysłu farmaceutycznego i spożywczego.

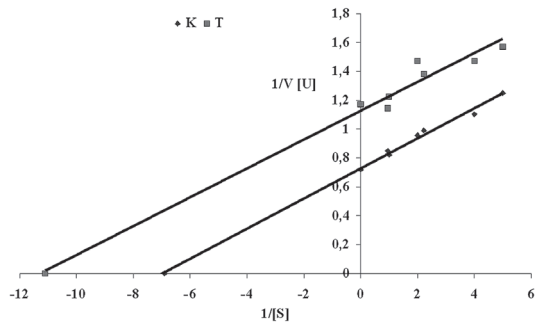


Ryc.1. Porównanie wartości EC<sub>50</sub> oraz współczynników biodostępności, bioprzyswajalności i bioefektywności *in vitro* dla ekstraktów z liści komosy ryżowej

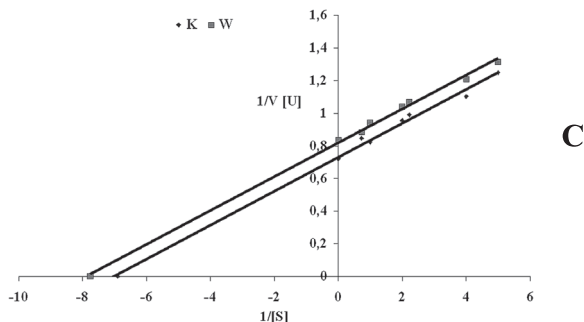
Fig. 1. Comparison of EC<sub>50</sub> values and bioaccessibility, bioavailability and bioefficiency factors determined for extracts from quinoa leaves



A



B



Ryc.2. Mechanizm działania potencjalnie biodostępnych (A), biodostępnych *in vitro* (B) i bioprzyswajalnych *in vitro* (C) inhibitorów OX z liści komosy ryżowej.

K- kontrola (bez inhibitora), B- ekstrakt buforowy, T- ekstrakt po trawieniu *in vitro*, W- ekstrakt po wchłanianiu *in vitro*

Fig.2. Mode of inhibition on potentially bioaccessible (A), bioaccessible *in vitro* (B) and bioavailable *in vitro* (C) XO- inhibitors from quinoa leaves. K- control sample, B- buffer extract, T- extract obtained after *in vitro* digestion, W- extract obtained after *in vitro* absorption

## WNIOSKI

1. Liście komosy ryżowej są bogatym źródłem potencjalnie biodostępnych i bioprzyswajalnych związków fenolowych, w tym flawonoidów i fenolkwasów.

2. Liście komosy są dobrym źródłem wysoce biodostępnych i bioprzyswajalnych inhibitorów oksydazy ksantynowej.

3. Fitozwiązki z liści komosy ryżowej działają jako inhibitory akompetycyjne oksydazy ksantynowej.

U. Gawlik-Dziki, M. Świeca, D. Dziki, B. Baraniak, J. Tomiło

LEAVES OF QUINOA (*CHENOPODIUM QUINOA* WILLD) AS A SOURCE OF NATURAL INHIBITORS OF XANTHINE OXIDASE

## Summary

The aim of this study was to determine phenolics content, bioaccessibility, bioavailability and bioefficiency *in vitro* of xanthine oxidase inhibitors from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) leaves. Mode of inhibition was estimated using the Lineweaver-Burke method. Leaves of quinoa were a good source of bioaccessible and bioavailable *in vitro* compounds acts as uncompetitive inhibitors of xanthine oxidase.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Sweeney A.P., Wylłie S.G., Shalliker R.A., Markham J.L.*: Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. *J. Ethnopharmacol.*, 2001; 75: 273-277.-2. *Umamaheswari M., Asokkumar K., Sivashanmugam A.T., Remyaraju A., Subhadradevi V., Ravi T.K.*: In vitro xanthine oxidase inhibitory activity of the fractions of *Erythrina stricta* Roxb. *J. Ethnopharmacol.*, 2009; 124: 646-64.-3. *Kostka-Jeziorny K., Tykarski A.*: Związek hyperurykemii z innymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego u pacjentów z pierwotnym, nieleczonym nadciśnieniem tętniczym w populacji badania RISK. *Art. Hypertension*, 2008; 12: 190-199.-4. *Gińdzieńska-Sieškiewicz E., Sierakowski S., Domysławska I., Sulik A.*: Dna moczanowa – aktualne spojrzenie na diagnostykę i leczenie. *Reumatologia*, 2010; 48: 425-428.-5. *Bhargava A., Shukla S., Ohri D.*: *Chenopodium quinoa* — an Indian perspective, *Indust. Crops Prod.*, 2006; 23: 73-87.-6. *Sułkowski M., Gawlik-Dziki U., Czyż J.*: Komosa ryżowa — słabo znane pseudozboże o kosmicznych właściwościach. *Kosmos, prob. nauk biol.*, 2011; 60: 475-481.-7. *Elles M., Blaylock M.J., Huang J.W., Gussman C.D.*: Plants as a natural source of concentrated mineral nutritional supplements. *Food Chem.*, 2000; 71: 181-188.-8. *Gawlik-Dziki U., Świeca M.*: Sprouts of selected plants as a source of bioavailable antioxidants and lipoxygenase inhibitors. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, Lublin – Polonia*, 2011; 18 (3) Sectio DDD: 67-79.-9. *Singleton V.L., Rossi J.A.*: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phodphotonegistics acid reagents. *Am. J. Etnol. Vitic.*, 1965; 16: 144-158.-10. *Lamaison J.L.C., Carnet A.*: Teneurs en principaux flavonoids des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C) en fonction de la vegetation. *Pharm. Acta. Helv.*, 1990; 65: 315-320.
11. *Szauffer-Hajdrych M.*: Phenolic acids in leaves of species of the *Aquilegia* genus. *Herba Pol.*, 1999; 50: 10-14. -12. *Juntachote. T., Berghofer. E.*: Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. *Food Chem.*, 2005; 92: 193-202.-13. *Shumacher H.R. Jr, Becker M.A., Wortman R.L., et al.*: Effects of febuxostat versus allopurinol and placebo in reducing serum urate in subjects with hyperuricemia and gout: a 28-week, phase III randomized, double-blind, parallel-group trial. *Arthritis. Rheum.*, 2008; 59: 1540-1548. -14 *Gawlik-Dziki U., Świeca M., Sugier D.*: (2012) Enhancement of antioxidant abilities and the lipoxygenase and xanthine oxidase inhibitory activity of broccoli sprouts by biotic elicitors. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*, 2012; 11(1): 13-25.-15. *Gawlik-Dziki U.*: Dietary spices as a natural effectors of lipoxygenase, xanthine oxidase, peroxidase and antioxidant agents. *LWT - Food Science and Technology*, 2012, 47: 138-146.

Adres: 20-704 Lublin, ul. Skromna 8.

Praca finansowana w ramach projektu Nr N N312 233738 w latach 2010-2013

Work financed from the national budget for science in years 2010-2013 as the research project Nr N N312 233738