

Budowa, występowanie oraz aktywność farmakologiczna glikoglicerolipidów

Jacek Achrem-Achremowicz¹, Karolina Grabowska², Marek Ellnain²

¹ Katedra Surowców i Przetwórstwa Owocowo-Warzywnego Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

² Katedra Farmakognozji Collegium Medicum UJ w Krakowie

Adres do korespondencji: Jacek Achrem-Achremowicz, Katedra Surowców i Przetwórstwa Owocowo-Warzywnego, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, tel./faks: 012 662 47 57, e-mail: mfachrem@cyf-kr.edu.pl

Structure, occurrence and pharmacological activity of glycoglycerolipids

Glycoglycerolipids are predominant lipids in chloroplast where they play a fundamental role in photosynthesis. Different classes of glycoglycerolipids have also been found in procaryotic cells and animal tissues. The biological functions, occurrence and distribution of glycoglycerolipids are an area of great interest and investigation. Recent studies have revealed their antifungal, antitumor, antibacterial, antileishmanial and anti-inflammatory activity.

Keywords: glycoglycerolipids, antitumour activity, anti-inflammatory activity.

© Farm Pol, 2009, 65(3): 184-191

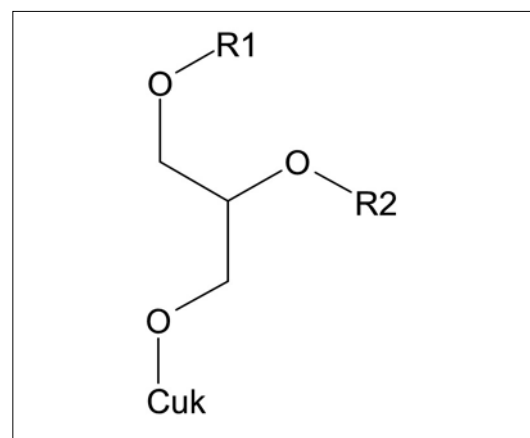
Glikoglicerolipidy są klasą złożonych lipidów zbudowanych z glicerolu oraz jednej lub większej liczby cząsteczek cukru i kwasów tłuszczowych. Glicerol jest w nich połączony z cukrem¹ wiązaniem glikozydowym, natomiast cząsteczki kwasów tłuszczowych wiązaniami estrowymi z jedną lub pozostałymi dwiema grupami hydroksylowymi glicerolu (**rycina 1**). Ze względu na taką budowę glikoglicerolipidy stanowią swoiste interfejsy (tączniki) między środowiskiem wodnym i hydrofobowymi lipidami. Obecnie znana jest budowa i rozmieszczenie tych związków w przyrodzie, jednak rola, jaką pełnią nie jest do końca wyjaśniona.

Wśród glikoglicerolipidów najbardziej rozpowszechnione są galaktoglicerolipidy (w skrócie nazywane dalej galaktolipidami). Są one głównym składnikiem lipidów tylakoidów² glonów i roślin wyższych, toteż są najczęściej występującymi w przyrodzie lipidami błonowymi [1]. W roślinach wyższych występują głównie dwa typy galaktolipidów. Jeden z nich – monogalaktozydylodiacylglicerol (MGDG) – stanowi prawie połowę lipidów chloroplastów. Drugi

natomiast – digalaktozydylodiacylglicerol – (DGDG) – zawierający dwie cząsteczki galaktozy połączone wiązaniem 1→6 α-glikozydowym, stanowi około 20% lipidów chloroplastów.

Galaktolipidy w fizjologicznym pH nie są zjonizowane, przez co są jedynymi lipidami obojętnymi błon tylakoidów. Pozostałe lipidy tych organelli – sulfochinowozydylodiacylglicerol (SQDG) i fosfatydyloglicerol (PG) przy fizjologicznym pH mają ładunki ujemne [2].

Badania nad rolą galaktoglicerolipidów w roślinach zostały ostatnio ułatwione dzięki odkryciu genów kodujących syntazy MGDG i DGDG, co pozwala na zbadanie funkcji tych cząsteczek przez różne eksperymenty z mutacjami częściowo lub całkowicie pozabawiającymi te geny aktywności. Dzięki temu można u roślin spowodować fragmentaryczne lub prawie zupełne niedobory galaktolipidów [1].



Rycina 1. Ogólny schemat budowy glikoglicerolipidów. R1, R2 – reszty kwasów tłuszczowych; Cuk – tączuch cukrowy

¹ W omawianych przypadkach zawsze w formie glukopiranozylowej.

² Pęcherzykowatych struktur, będących podstawowym elementem budowy wewnętrznej chloroplastów komórek roślinnych.

Badania rentgenograficzne wykazały, że galktolipidy występują w strukturach kompleksów fotosyntetyzujących, co sugeruje ich udział w tym procesie [2].

W warunkach stresu fizjologicznego, polegającego na niedoborze fosforu w glebie, u roślin w błonach pozaplastydowych wzrasta poziom digalaktozydodiacylglicerolu (DGDG). Związek ten, jako polarny, prawdopodobnie częściowo zastępuje fosfatydyloglicerol, dzięki czemu odpowiednie właściwości fazowe błony lipidowej pozostają niezaburzone. W DGDG dzięki obecności dwóch cząsteczek galaktozy, polarność „główki” jest większa i w mieszaninach z wodą tworzy fazy lamelarne La (warstewkowe). Podobnie do DGDG zachowują się pozostałe lipidy tylakoidów (SQDG i PG) i są zaliczane do lipidów tworzących dwuwarstwę. Inaczej MGDG, tworzy fazy heksagonalne odwrócone (H_{II}), z grupami polarnymi skierowanymi do wnętrza miceli lub struktury rurkowej. We wszystkich organizmach stosunek lipidów tworzących dwuwarstwę do nietworzących jej jest krytyczny dla prawidłowego fałdowania i wbudowywania w nią białek, jak również ich odpowiedniego adresowania w transporcie wewnątrzkomórkowym [2]. Proporcja MGDG do DGDG jest w chloroplastach ściśle regulowana, co wpływa na ich funkcjonowanie. Potwierdzono to, badając mutantą *Arabidopsis dgd1* o ograniczonej w 90% syntezie DGDG, u którego występowały zaburzenia importu białek prekursorowych kierowanych do wnętrza chloroplastów [2].

Wpływ glikolipidów na czynność błon komórkowych badano również u bakterii i wykazano, że monoglukozylodiacylglicerol mógł częściowo zastępować fosfatydyloetanolaminę (PE). Żywotność mutantów bakterii *Escherichia coli* ze zmutowanym genem kodującym kluczowy enzym odpowiedzialny za syntezę PE – syntezę fosfatydyloserynową – była obniżona. Mutacja spowodowała także zmniejszenie integralności komórek wskutek upośledzenia wielu innych funkcji błony. Wprowadzenie obcego dla *E. coli* monoglukozylodiacylglicerolu, syntetyzowanego przez inną bakterię *Acholeplasma laidlawii* znacząco poprawiło funkcjonalność błon, a przez to żywotność *E. coli* i funkcjonowanie wielu białek zależnych od PE [3].

Glikoglicerolipidy występują również u zwierząt. Najczęściej są to alkiloacylo-3-glikoglicerole. W tych lipidach jedna z grup hydroksylowych glicerolu tworzy połączenie eterowe³ z alkoholem tłuszczowym, zamiast estrowego z kwasem tłuszczowym. Alkiloacyloglicerole występują u ssaków w jądrach, tkankach ośrodkowego układu nerwowego, są też obecne w ludzkiej ślinie [4]. Niektóre diacyloglicerolipidy mają pewien stopień topologicznego podobieństwa do cerebrozydów – pochodnych glikozylo-N-acylosfingozyny. Przykładowo 2,3-di-

O-mirystoilo-1-O-(β -D-glukozylo)-sn-glicerol jest substratem ludzkiej lizosomalnej glukozylceramidazy (EC 3.2.1.45). U ssaków ten enzym rozkłada glukocerebrozydy na glukozę i ceramidy a jego niedobór jest związany z chorobą Gauchera [4].

Jedną z funkcji galaktoglicerolipidów jest sygnalizacja zewnątrzkomórkowa. Niedawno odkryto, że patogenne galaktoglicerolipidy z bakterii *Borrelia burgdorferi*, powodującej u ludzi boreliozę (chorobę z Lyme), są rozpoznawane przez mysie komórki NKT niezmienniej linii $V\alpha_{14}$, i powodują proliferację tych komórek. Siła odpowiedzi obronnej zależy od budowy patogennych glikolipidów, tj. od długości i stopnia nienasycenia przyłączonych łańcuchów kwasów tłuszczowych [5]. Obecność galaktolipidów w niektórych patogenach może być odpowiedzialna za indukowanie pewnych chorób autoimmunogennych, jak zespół Guillain-Barré. Wprawdzie głównymi podejrzanymi o takie działanie cząsteczkami są glikoceramidy, jednak nie jest tu wykluczona także rola glikoglicerolipidów [6].

Zmodyfikowane glikoglicerolipidy

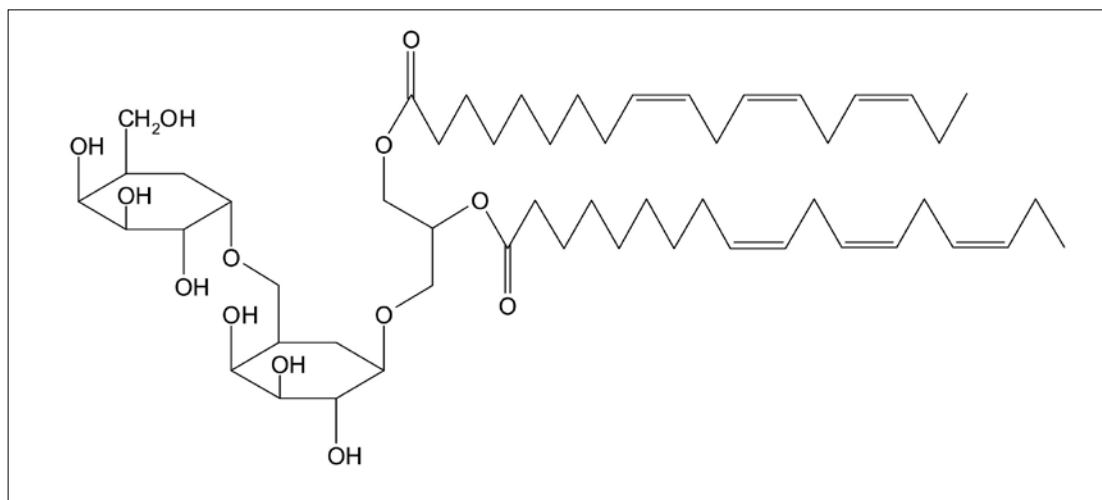
Wprawdzie większość roślinnych glikoglicerolipidów stanowią MGDG i DGDG, jednak poznano liczne związki pochodne, których rola fizjologiczna dla roślin i potencjalne zastosowania medyczne są intensywnie badane.

Pozbawione łusek nasiona owsa obok dominującego wśród galaktolipidów DGDG i MGDG, zawierają także inne galaktolipidy i ich pochodne. Są to trigalaktozydodiacylglicerol (TriGDG), tetragalaktozydodiacylglicerol (TetraGDG) oraz estolidy DGDG, TriGDG, TetraGDG. Estolidy to galaktolipidy, w których grupy hydroksylowe specyficznych hydroksykwasów tłuszczowych są dodatkowo zestyfikowane. W nasionach owsa tym hydroksykwasem jest kwas awenolowy czyli 15(R)-hydroksylinolowy. Jest on przyłączony do glicerolu w pozycji sn-2, a kolejna cząsteczka kwasu awenolowego jest powiązana estrowo z grupą 15-hydroksylową kwasu awenolowego połączonego z glicerolem (**rycina 2**).

W owsie zidentyfikowano dotychczas mono- i triestolidy. Łącznie estolidy stanowią ok. 30% galaktolipidów występujących w jądrach nasiennych owsa [7]. Z kolei w rzodkiewniku pospolitym (*Arabidopsis thaliana*) występują inne ciekawe połączenia galaktolipidów, nazywane arabidopsydami. Są to mono- lub digalaktozglucerolipidy, w których glicerol w pozycjach sn-1 i sn-2 jest zestyfikowany pochodnymi kwasu 12-okso-fitodienowego i jego dinor-pochodnej (kwasu dinor-12-okso-fitodienowego) [8].

W innych badaniach wykryto również inne kwasy, tzw. ketolowe – 12-okso-13-hydroksy-9(Z), 15(Z)-

³ Podobnie, jak w plazmogenach.



Rycina 2. Estolid monogalaktozyliacyloglicerolu

oktadekadienowy i 9-hydroksy-12-okso-10(E), 15(Z)-oktadekadienowy oraz ich 16-węglowe analogi (dinoor) [9]. Związki takie są prekursorami fitohormonów pochodnych kwasu jasmonowego (jasmonidów). Ich biosynteza jest aktywowana m.in. pod wpływem uszkodzeń mechanicznych lub patogenów bakteryjnych. Arabidopsydy są prawdopodobnie magazynem prekursorów jasmonidów, ale mogą również hamować rozwój grzybów, jak np. *Botrytis cinerea* [9].

Przekształcenia glikoglicerolipidów w przewodzie pokarmowym

Zarówno MGDG jak i DGDG są częściowo trawione w przewodzie pokarmowym. W doświadczeniach na szczurach wykazano, że obydwa typy związków są szybko rozkładane do wolnych kwasów tłuszczowych i mono- lub digalaktozyloglicerolu (MGG, DGG). Z powodu braku α -galaktozydazy, MGG ani DGG nie są dalej trawione w jelicie i nie wchłaniają się z przewodu pokarmowego. Galaktozyloglicerole te stają się dopiero substratami dla jelitowych bakterii fermentacyjnych, znajdujących się w kątnicy (jelicie ślepy). DGG jest również częściowo rozkładany w jelicie grubym do galaktozy i MGG [10]. U ssaków enzymy odszczepiające z galaktolipidów kwasy tłuszczowe znajdują się głównie w soku trzustkowym – cielęca pankreatyna trawi ok. 40% DGDG z oleju owsianego; DGDG stanowi w tym oleju 3% lipidów [11]. Korzystne działanie galaktozylogliceroli może zatem wynikać z ich odżywczego działania na bakterie jelita grubego i ślepego [10].

Aktywność przeciwgrzybicza glikolipidów

Niektóre glikolipidy odznaczają się działaniem przeciwgrzybiczym wobec wielu grzybów będących niebezpiecznymi patogenami dla człowieka.

Flokulozyna, analog glikoglicerolipidowy wyizolowany z grzyba *Pseudozyma flocculosa* Boekhout i Traquair, wykazała działanie przeciwgrzybicze w badaniach *in vitro* wobec takich patogenów grzybowych, jak *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida lusitanae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichosporon asahii*. Flokulozyna działała synergistycznie razem z amfoterycyną B, silnym antybiotykiem przeciwgrzybiczym, pozwalając zmniejszyć dawkę toksycznej amfoterycyny B nawet wobec patogenów grzybowych dotychczas uznawanych za odporne na ten antybiotyk (*C. glabrata*, *C. lusitanae*). Istotny jest również fakt, iż flokulozyna nie wykazała działania cytotoksycznego wobec ludzkich linii komórek nowotworowych (T24 – pęcherza moczowego, Rupp2 – nerki, Lovo – jelita grubego, HepG2 – wątroby, HACAT – skóry, CHODOFF – nerki) w stężeniach nawet do 250 $\mu\text{g/ml}$, podczas gdy amfoterycyna B była toksyczna wobec tych linii już przy stężeniach rzędu 4 $\mu\text{g/ml}$. Flokulozyna podawana razem z amfoterycyną B działała synergistycznie, znacznie obniżając jej MIC (najmniejsze stężenie działające hamująco – ang. *minimal inhibitory concentration*), nie zwiększając przy tym jednak cytotoksyczności antybiotyku [12].

Aktywność przeciwnowotworowa glikolipidów

Japońscy badacze wykazali, że frakcja glikolipidowa szpinaku (*Spinacia oleracea*), zawierająca w swoim składzie MGDG, DGDG i SQDG ma potencjalne właściwości przeciwnowotworowe. Związki te hamują α -polimerazę DNA [13] i wzrost komórek nowotworowych oraz wywierają działanie antyangiogenne (hamują tworzenie nowych naczyń krwionośnych) w obrębie guza. Frakcja glikolipidowa szpinaku wywołała supresję wzrostu następujących linii ludzkich

⁴ GOPO.

komórek nowotworowych w badaniach *in vitro*: A-549 (nowotwór płuca), BALL-1 (ostra białaczka limfoblastyczna B), HeLa (nowotwór szyjki macicy), Molt-4 (ostra białaczka limfoblastyczna T), NUGC-3 (nowotwór żołądka) oraz linii mysich komórek nowotworowych (nowotwór jelita grubego). Aktywność przeciwnowotworową glikolipidowej frakcji szpinaku przebadano ponadto *in vivo* na myszach, którym uprzednio wszczepiono podskórnie komórki nowotworu jelita grubego. Glikolipidy szpinaku, podawane *per os* w dawce 20 mg/kg masy ciała dziennie znacznie zahamowały powstawanie nowych naczyń krwionośnych w obrębie guza u myszy z zaindukowanym nowotworem, w porównaniu z grupą kontrolną. Można zatem wnioskować o antyangiogennej aktywności tego rodzaju związków [14]. Istnieją także badania dowodzące, że za działanie hamujące wzrost komórek nowotworowych *in vitro* mogą odpowiadać same MGG oraz DGG. Wykazano, iż diglukozylglicerol samodzielnie okazał się silniejszym inhibitorem wzrostu komórek HMO2 (gruczolakorak żołądka) oraz HepG2 (nowotwór wątroby) niż w połączeniu z kwasami tłuszczowym [15].

Według niektórych badaczy MGDG może także działać chemoprewencyjnie przez hamowanie w komórkach nadmiernej produkcji tlenu azotu (NO). Działanie to udowodniono w badaniach *in vitro* na komórkach RAW 264.7 (mysie makrofagi). Testowany związek, 1,2-di-O- α -linolenilo-3-O- β -D-galaktozylo-sn-glicerol (dLGG⁴), w znaczący sposób zahamował wytwarzanie tlenu azotu w makrofagach RAW 264.7, stymulowanych lipopolisacharydem bakteryjnym.

Wykazano także zdolność dLGG do „zmiatania” NO w warunkach *in vivo*. Tlenek azotu oraz jego metabolity są mutagenami, które mogą powodować deaminację DNA oraz inaktywować enzymy odpowiadające za naprawę uszkodzonego łańcucha DNA. Związki hamujące produkcję NO, bądź obniżające jego poziom w komórce mogą zatem odegrać istotną rolę w chemoprewencji chorób nowotworowych. Postulowane są także inne mechanizmy działania przeciwnowotworowego dLGG, m.in. wpływ na COX-2 (cyklooksygenazę 2) oraz iNOS (indukowalną syntazę tlenu azotu), enzymy odgrywające istotną rolę w procesie zapalenia [16].

Ponadto wykazano, że MGDG szpinaku są inhibitorami aktywacji wirusa EBV (*Epstein-Barr Virus*). W przeprowadzonym teście *in vitro* na komórkach Raji⁵ induktorem aktywacji wirusa była teleocydyna B. Wirus EBV jest odpowiedzialny m.in. za powstawanie takich schorzeń, jak mononukleozą zakaźną, rak jamy nosowogardłowej czy chłoniak Burkitta. Skuteczne blokowanie jego aktywacji może zatem

mieć istotne znaczenie w prewencji tego rodzaju schorzeń [17].

Podobną aktywność wobec wirusa EBV w badaniach *in vitro* wykazały również galaktolipidy wyizolowane z liści *Citrus hystrix* – rośliny stosowanej w tajskiej medycynie naturalnej [17] oraz sinic *Phormidium tenue* [18]. Ponadto galaktolipidy z *Phormidium tenue*, należące do grupy DGDG, skutecznie blokowały powstawanie brodawczaka (ang. *papilloma*) indukowanego estrami forbolu oraz metylobenzantracenenem na skórze myszy [19]. Galaktolipidy posiadają także właściwości indukujące apoptozę, które zostały udowodnione w badaniach *in vitro* na mysich liniach komórkowych (dzięki W2 i D3 z niefunkcyjnymi genami *bax* i *bak*⁶). Związki te zostały wyizolowane z morskiego gatunku okrzemek *Phaeodactylum tricornutum* i należą do grupy MGDG. Nie jest dokładnie poznany mechanizm działania tego typu związków, ale badania nad nimi mogą wyznaczyć nowy kierunek w poszukiwaniach proapoptotycznych leków przeciwnowotworowych [20]. Działanie takie wykazał także w badaniach *in vitro* na ludzkich liniach komórek nowotworu żołądka SNU-1 SQDG. Związek ten dodawany do hodowli komórek w stężeniu 100 μ M/ml powodował ich śmierć poprzez indukcję apoptozy, co potwierdziła fragmentacja łańcucha DNA wykryta na drodze cytometrii przepływowej. Ostateczne potwierdzenie mechanizmu działania SQDG oraz ocena jego przydatności jako środka chemioterapeutycznego czy chemoprewencyjnego w nowotworach żołądka wymaga jednak dalszych badań [21].

Istnieją także doniesienia o antymitotycznym działaniu gliceroglikolipidów. Przykładem mogą być odkryte niedawno nigrikanozydy A i B wyizolowane z zielenic *Avrainvillea nigricans*. Związki te, od pospolicie występujących w świecie roślinnym i zwierzęcym gliceroglikolipidów, odróżnia wiązanie eterowe, jakim oksylipiny są połączone ze sobą oraz z resztą galaktozy. Aktywność antymitotyczna tych związków została wykazana w badaniach *in vitro* na ludzkich liniach komórkowych MCF-7 (nowotwór piersi) [22].

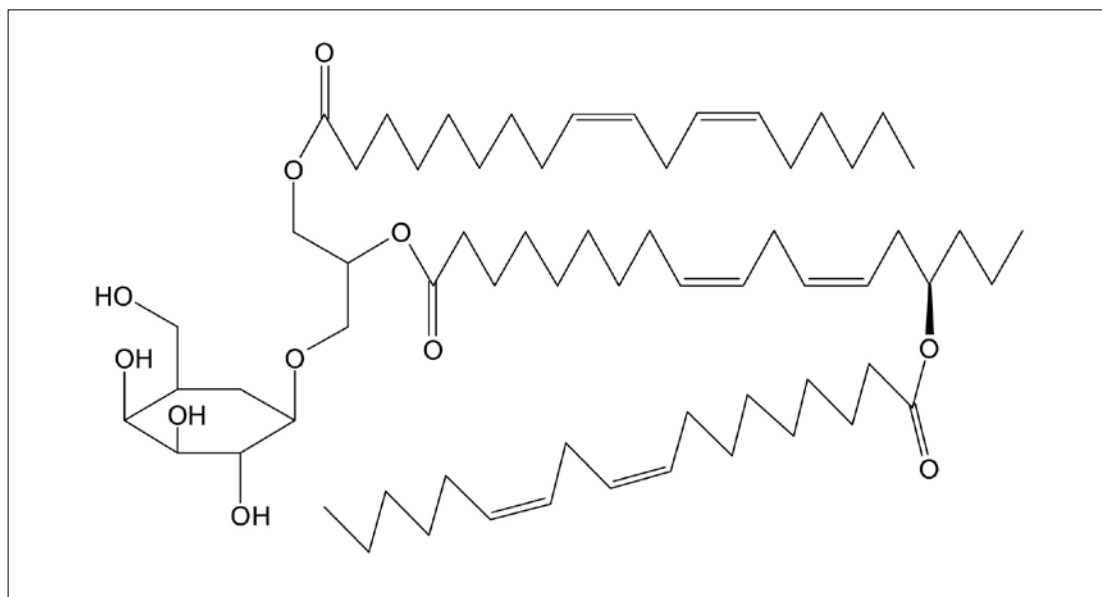
Aktywność przeciwzapalna glikolipidów

W licznych badaniach wykazano możliwość zastosowania glikolipidów, jako czynników o aktywności przeciwzapalnej. Reakcja zapalna jest złożonym, dynamicznym procesem, w którym uczestniczą komórki układu odpornościowego (leukocyty, makrofagi, neutrofile), mediatory zapalenia (interleukiny, TNF⁷, histamina) oraz enzymy odpowiedzialne za tworzenie prostaglandyn oraz leukotrienów (cyklooksygenazy, głównie COX-2, oraz 5-lipooksygenaza – 5-LX).

⁵ Linia komórek limfatycznych uzyskana z chłoniaka Burkitta.

⁶ Czyli niepodlegających apoptozie

⁷ *Tumor Necrosis Factor* – czynnik martwicy nowotworu.



Rycina 3. GOPO – przykład digalaktozylo-diacyloglicerolu (DGDG)

Odkrycie frakcji galaktozylogliceroli zestryfikowanych kwasami mirystynowym, palmitynowym oraz 8-heksadecenowym w *Phyllospongia foliascens*, gąbce morskiej z okolic Okinawy, było jednym z pierwszych doniesień na temat aktywności przeciwzapalnej glikoglicerolipidów [23].

Dalsze badania wykazały istnienie związków o analogicznej strukturze wśród roślin wyższych, od dawna stosowanych jako surowce przeciwzapalne [24]. W licznych badaniach zaobserwowano hamowanie reakcji zapalnej przez wyciągi przygotowane z owoców dzikiej róży (*Rosa canina*) [25]. W analizach *in vitro* stwierdzono, że wyciąg heksanowy oraz dichlorometanowy hamowały COX-1, COX-2 oraz LX, podczas gdy wyciąg metanolowy wykazywał aktywność antyoksydacyjną [26]. Ponadto analizy przeprowadzone na zdrowych ochotnikach oraz osobach cierpiących na chorobę zwyrodnieniową stawów wykazały wpływ spożycia owoców dzikiej róży pochodzących z duńskich upraw na obniżanie parametrów zapalenia. Podanie preparatu dostarczonego przez firmę Hyben Vital (Dania), w dawce 45 g/dzień przez okres 28 dni spowodowało spadek poziomu markera ostrej fazy stanu zapalnego (CRP), kreatyniny oraz redukcję chemotaksji leukocytów o blisko 60% [27]. Dalsze badania *in vitro* wykazały, że najsilniejszą aktywnością hamującą chemotaksję odznacza się wyciąg dichlorometanowy. Stwierdzono, że jednym ze składników odpowiedzialnych za przeciwzapalną aktywność jest galaktolipid GOPO [(2S)-1,2-di-O-[(9Z,12Z, 15Z)-oktadeka-trienyl]-3-O-β-D-galaktozyloglicerol] (rycina 3)

[28]. Chemotaksja wielojądrzastych leukocytów (ang. PMNs – *polymorphonuclear leukocytes*), pobudzana ZAS (ang. *zymosan-activated human serum*) uległa znaczącemu spadkowi po preinkubacji komórek PMNs z GOPO w stężeniach 100, 50, 10, 1 i 0,1 μg/ml. Największe obniżenie migracji (o 82%) wykazano dla leukocytów preinkubowanych z GOPO w stężeniu 100 μg/ml. Zastosowanie niższych stężeń galaktolipidu, 50, 10, 1 i 0,1 μg/ml, spowodowało inhibicję migracji komórek odpowiednio o 77, 62, 64 i 7% [28].

Podobne wyniki osiągnięto w kolejnym badaniu. Galaktolipid podany w stężeniach 50, 25, 10, 1 μg/ml hamował stymulowaną ZAS chemotaksję leukocytów odpowiednio o 99, 52, 62, 64%. Zastosowany w stężeniach 50 μg/ml i 100 μg/ml nie wywierał toksycznego wpływu na PMNs [29].

Przeprowadzono również ocenę wpływu galaktolipidu GOPO na zmniejszanie reakcji oksydacyjnej leukocytów, tzw. wybuch tlenowy. Nadmierny napływ leukocytów do ogniska zapalenia oraz generowanie przez nie znacznych ilości wolnych rodników może doprowadzić do destrukcji elementów strukturalnych stawów i jest jednym z czynników w etiopatogenezie choroby reumatoidalnej. Do analizy wykorzystano test chemiluminescencji po pobudzeniu PMNs opsonizowanym zymozanem. Preinkubacja leukocytów z galaktolipidem w analizowanych stężeniach 10, 25 i 50 μg/ml spowodowała obniżenie generowania wolnych rodników odpowiednio o 37, 19 i 13% [29].

Efektom odkrycia galaktolipidu GOPO było wprowadzenie na polski rynek farmaceutyczny doustnego preparatu zawierającego zmielone owoce rosnącej w Danii dzikiej róży. Specyfik jest zalecany pacjentom cierpiącym na chorobę zwyrodnieniową stawów. Producenci uważają, że skuteczność medykamentu jest związana z wysoką zawartością galaktolipidu.

Glikoglicerolipidy są klasą złożonych lipidów zbudowanych z glicerolu oraz jednej lub większej liczby cząsteczek cukru i kwasów tłuszczowych. Glicerol jest w nich połączony z cukrem wiązaniem glikozydowym, natomiast cząsteczki kwasów tłuszczowych wiązaniami estrowymi z jedną lub pozostałymi dwiema grupami hydroksylowymi glicerolu.

Sugerują, że znaczna ilość GOPO wynika z zastosowania specjalnego procesu suszenia surowca [29].

W ostatnich latach, w Danii i Norwegii przeprowadzono randomizowane badania kliniczne, mające na celu ocenę skuteczności i bezpieczeństwa stosowania standaryzowanego preparatu z owoców dzikiej róży wobec placebo [30–32]. Poddano metaanalizie badania opublikowane w latach 2003–2005, w których wzięto udział łącznie 306 osób z lekką i ciężką postacią choroby zwyrodnieniowej stawów. Badano głównie osoby cierpiące na zwyrodnienie w obrębie stawu kolanowego (61,4%). Średnia wieku wśród pacjentów wynosiła 65,6 lat. Badania trwały 3 lub 4 miesiące, w czasie których osobom podawano standaryzowany preparat z owoców róży (Hyben Vital, Dania) w dawce 5 g/dzień lub placebo. W grupie chorych uczestniczących w analizach, w porównaniu z grupą kontrolną (placebo), stwierdzono redukcję bólu stawów. Wielkość efektu (ES) wyniosła 0,37, co świadczy o umiarkowanej redukcji bólu, przy przedziale ufności (CI): 0,13–0,60, ($p=95\%$). Efekt zaobserwowano u 61,4% osób przyjmujących preparat. Sprawdzano również wpływ podawania specyfiku z róży na użycie środków przeciwbólowych przez pacjentów dotkniętych chorobą. Stwierdzono zmniejszenie użycia analgetyków (ES = 0,28, CI: 0,05–0,51, $p=95\%$) – redukcja użycia leków była znacząca jedynie w grupie pacjentów cierpiących na wczesną fazę choroby. Ponadto zaobserwowano bardzo dobrą tolerancję preparatu. Działania niepożądane w grupie przyjmującej preparat były takie same, jak w grupie placebo. Należy jednak zaznaczyć, że przeprowadzone analizy były krótkoterminowe i dotyczyły okresu 3–4 miesięcy. Badania wykazały umiarkowaną, lecz klinicznie znaczącą skuteczność preparatu z owoców duńskiej dzikiej róży w redukcji bólów kostnych u pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów [33].

Obecność glikolipidów o działaniu przeciwzapalnym stwierdzono również w omanie lepkiem *Inula viscosa*. Jednym z aktywnych składników okazał się DGDG (1-Oheksadekanoilo-2-O-(9Z,12Z, 15Z-oktadekatrienoilo)-3-O-[α -D-galaktozylo(1'' \rightarrow 6')-O- β -D-galaktozylo]-glicerol), określony jako inugalaktolipid A. Zaobserwowano, że wyizolowany DGDG wykazywał znaczną aktywność w modelu przewlekłego zapalenia skóry indukowanego przez TPA (13-octan-12-O-tetradekanoiloforbolu). Aplikowany miejscowo w dawce 0,5 mg/ucho dwa razy dziennie przez 4 dni hamował odczyn zapalny o 97%. Zapobiegał m.in. powstawaniu obrzęku, kumulacji leukocytów oraz hiperplazji naskórka. Porównywalny efekt uzyskano stosując deksametazon w dawce 0,05 mg/ucho, który wykazywał inhibicję o 92%. W badaniu analizowano również wpływ DGDG na aktywność mieloperoksydazy (MPO), która jest głównym enzymem związanym z pobudzeniem czynności metabolicznej neutrofilii. Wykazano, że inugalaktolipid A hamuje enzym o 84%,

podczas gdy deksametazon o 92%. Dalsze badania wykazały niewielki wpływ DGDG na redukcję obrzęku uszu myszy indukowanego jednorazowym działaniem TPA. Inugalaktolipid A podany miejscowo, w dawce 0,5 mg/ucho nie osiągnął nawet 50% inhibicji stanu zapalnego. Ponadto nie wykazywał aktywności *in vivo*, w modelach zapalenia wywołanych podaniem kwasu arachidonowego oraz podskórnym wstrzyknięciem karageniny. Wyniki przytoczonych badań sugerują, że inugalaktolipid A podawany miejscowo ma niewielką aktywność hamującą ostry stan zapalny. Zastosowany wielokrotnie jednak skutecznie zapobiega rozwojowi zapalenia, dlatego może być wykorzystywany w miejscowym leczeniu przewlekłych stanów zapalnych skóry, w których dochodzi do kumulacji neutrofilii [34].

Niedawno wykazano również aktywność przeciwzapalną dla gliceroglikolipidów z nadziemnych części *Euphorbia nicaeensis*. Analiza struktury związków pozwoliła na określenie ich struktury jako: (2S)-2,3-O-di-(9,12, 15-oktadekatrienoilo)-O- β -Dgalaktozylo-glicerol (MGDG-1), (2S)-2,3-O-di-(heksadekanoilo)-O- β -Dgalaktozyloglicerol (MGDG-2), (2S)-2,3-O-di-(9,12,15-oktadekatrienoilo)-1-O-[α -D-galaktozylo-(1'' \rightarrow 6')-O- β -D-galaktozylo]-glicerol (DGDG), (2S)-3-O-(9, 12, 15-oktadekatrienoilo)-O- β -D-galaktozylo]-glicerol (MGMG-1), (2S)-3-O-(9, 12-oktadekadienoilo)-O- β -D-galaktozylo]-glicerol (MGMG-2). Aktywność przeciwzapalną zbadano *in vivo*, na podstawie testu obrzęku ucha myszy indukowanego olejem krotonowym. Wyizolowane glikoglicerolipidy podawano miejscowo w dawce 1 μ M/cm². Równocześnie zastosowano indometacynę w dawce 0,25 μ M/cm² jako lek referencyjny. Najaktywniejszy okazał się MGDG-1, który hamował stan zapalny o 92%, podczas gdy indometacyna tylko o 48,6%. Pozostałe glikoglicerolipidy w mniejszym stopniu hamowały obrzęk zapalny. MGDG-2 o 65%, DGDG o 82,9%, a MGMT-1 i MGMT-2 o 61% [35].

Obecność MGDG-1 oraz MGMT-1 stwierdzono także w innych gatunkach z rodziny *Euphorbiaceae*, m.in. *Euphorbia peplis* [35]. Z rośliny tej wyizolowano ponadto DGDG – (2S)-2,3-O-di-(9,12, 15-oktadekatrienoilo)-1-O-[α -D-galaktozylo-(1'' \rightarrow 6')-O- β -D-galaktozylo]-glicerol. DGDG aplikowany miejscowo w dawce 1 μ M/cm² ujawnił znaczącą aktywność w modelu zapalenia indukowanego olejem krotonowym. Galaktolipid zmniejszał obrzęk uszu myszy o 82,9%, podczas gdy podanie leku referencyjnego – indometacyny w dawce 0,25 μ M/cm² powodowało redukcję obrzęku jedynie o 48,6% [36]. Związki o analogicznej strukturze i aktywności, m.in. 1-O-(β -D-glukozylo)-3-heksadekanoiloglicerol (MGMG),

Wśród glikoglicerolipidów najbardziej rozpowszechnione są galaktoglicerolipidy (w skrócie nazywane dalej galaktolipidami). Są one głównym składnikiem lipidów tylakoidów glonów i roślin wyższych, toteż są najczęściej występującymi w przyrodzie lipidami błonowymi.

1-O-(β -D-glukozylo)-3-heksadekanoilo-2-(oktadeka-9'Z,12'Z, 15' Z-trienoilo)glicerol (MGDG) oraz 1-O-(β -D-glukozylo)-2,3-di(oktadeka-9' Z,12' Z, 15'Z-trienoilo) glicerol (MGDG), odkryto również w *E. cyparissias* [37, 38].

Skuteczność w modelu obrzęku ucha myszy wywołanego olejem krotonowym wykazano również dla MGDG i DGDG z sinic *Phormidium ETS-05*. Po 72 godzinach 2% MGDG redukowało obrzęk ucha o 53%, podczas gdy 2% DGDG o 43%. Analiza struktury MGDG ujawniła 30% udział kwasu sterydowego. Podczas dalszych badań zaobserwowano, że 1% MGDG po 24 godzinach hamował obrzęk ucha myszy wywołany olejem krotonowym o 19,1%, podczas gdy uwodorniony MGDG tylko o 5,9%. Autorzy badań sugerują istnienie zależności między stopniem nasycenia kwasu tłuszczowego budującego glikolipid a siłą jego działania przeciwwzapalnego [39].

Inne profile aktywności glikolipidów

Badania przeprowadzone przez indyjskich uczonych wykazały, że glikolipidy mogą okazać się skutecznym środkiem w walce z pasożytem człowieka i zwierząt – pierwotniakiem *Leishmania donovani*. Z gatunku *Desmodium gangeticum* wyizolowano glikolipid zawierający w części cukrowej grupę aminową połączoną z glukozą (aminoglukoglicerolipid). Związek ten w badaniach *in vitro* przeprowadzonych na makrofagach chomika zainfekowanych tym pierwotniakiem,

w znacznym stopniu zahamował rozwój amastygotów – wewnątrzkomórkowych form pasożyta. Wykazano, że indukuje wytwarzanie tlenu azotu, który niszczy amastygoty wewnątrz makrofagów [40].

Według włoskich badaczy glikolipidy wykazują aktywność przeciwbakteryjną, przy czym jest ona w dużej mierze zależna od rodzaju kwasu tłuszczowego, jakim zestryfikowany jest glicerol przy atomach węgla 1 i 2. Zsyntetyzowano kilkanaście pochodnych 1,2-O-diacyl-3-O- β -D-galaktozyliowych, których aktywność przeciwbakteryjną zbadano *in vitro* wobec różnych szczepów bakterii patogennych dla człowieka, m. in. *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *M. tuberculosis*. Wykazano, iż największą aktywnością przeciwbakteryjną wobec *B. subtilis*, *M. tuberculosis* oraz *S. aureus* cechują się glikolipidy mające resztę kwasu oktanowego przy atomie węgla *sn-1* glicerolu oraz nienasycony kwas tłuszczowy przy atomie *sn-2*. Z kolei glikolipidy zawierające

resztę kwasu dekadowego przy atomie *sn-1* glicerolu były bardzo aktywne wobec *S. aureus*, *E. faecalis* i *B. subtilis*, nie wykazując przy tym aktywności wobec *M. tuberculosis* [41].

Aktywność przeciwbakteryjną wobec *E. faecalis* wykazał także spongilipid wyizolowany z gąbki gatunku *Spongia hispida*. Związek ten należy do grupy MGMG i jest 1-palmitoilo-3- β -D-galaktozylo-*sn*-glicerolem [42].

Z krasnorostu *Hydrolithon reinboldii* wyizolowano litonozyd (ang. lithonoside) – związek o umiarkowanej aktywności antyneoplastycznej (IC_{50} = 19,8 μ M) i słabej przeciwmalarycznej (IC_{50} = 72 μ M). Po określeniu jego struktury okazało się, że jest to galaktolipid z dość typowymi kwasami tłuszczowymi – palmitynowym i arachidonowym (1-O-(palmitoilo)-2-O-(5Z, 8Z, 11Z, 14Z-eikozatetraenoilo)-3-O- β -D-galaktozylo-glicerol) [43].

Podsumowanie

Glikoglicerolipidy stanowią obszerną klasę lipidów o dość zróżnicowanej strukturze. Analizując zgromadzone dane stwierdzono, że aktywność farmakologiczna tych związków jest bardzo różnorodna, co czyni je interesującym obiektem dalszych badań. Należy jednak pamiętać, że większość eksperymentów mających na celu zdeterminowanie aktywności farmakologicznej glikoglicerolipidów przeprowadzono w warunkach *in vitro*, zatem niezbędne są dalsze badania, mające na celu określenie przydatności tych związków w terapii różnego rodzaju schorzeń. Wyjątkiem są tu badania kliniczne dotyczące preparatu zawierającego galaktolipid GOPO, które przeprowadzono na ludziach. Skuteczność preparatu w redukcji bólów zwyrodnieniowych stawów oceniono jako umiarkowaną, ale znaczącą klinicznie. Istotny jest jednak fakt, że galaktolipidy nie wchłaniają się z przewodu pokarmowego ssaków, lecz są częściowo trawione do MGG i DGG, będących substratami fermentacji bakteryjnej w okrężnicy. Zasadne wydaje się zatem rozważenie alternatywnych dróg podania tego rodzaju związków.

Przyjęto: 2008.12.19 · Zaakceptowano: 2009.01.22

Piśmiennictwo

1. Hölzl G., Dörmann P.: Structure and function of glycolipids in plants and bacteria, *Prog. Lipid Res.* 2007, 46 (5), 225-243.
2. Dörmann P., Benning C.: Galactolipids rule in seed plants, *Trends Plant Sci.* 2002, 7 (3), 112-118.
3. Wikström M., Xie J., Bogdanov M. i wsp.: Monoglucosyldiacylglycerol, a Foreign Lipid, Can Substitute for Phosphatidylethanolamine in Essential Membrane-associated Functions in *Escherichia coli*, *The Journal of Biological Chemistry* 2004, 279 (11), 10484-10493.
4. Glew R., Gopalan V., Hubbell C. i wsp.: 2, 3-di-O-tetradecyl-1-O-(β -D-glucopyranosyl)-*sn*-glycerol is a substrate for human glucocerebrosidase., *Biochem. J.* 1991, 274, 557-563.

Jedną z funkcji galaktoglicerolipidów jest sygnalizacja zewnątrzkomórkowa.

Niedawno odkryto, że patogenne galaktoglicerolipidy z bakterii *Borrelia burgdorferi*, powodującej u ludzi boreliozę powodują proliferację pewnego rodzaju mysich komórek NKT. Siła odpowiedzi obronnej zależy od budowy patogennych glikolipidów, tj. od długości i stopnia nienasycenia przyłączonych łańcuchów kwasów tłuszczowych. Obecność galaktolipidów w niektórych patogenach może odpowiadać za indukowanie niektórych chorób autoimmunogennych, jak zespół Guillain-Barré.

5. Kinjo Y., Tupin E., Wu D. i wsp.: Natural killer T cells recognize diacylglycerol antigens from pathogenic bacteria, *Nat. Immunol.* 2006, 7, 978-986.
6. Klement M., Ojemyr L., Tagscherer K. i wsp.: A processive lipid glycosyltransferase in the small human pathogen *Mycoplasma pneumoniae*: involvement in host immune response, *Mol. Microbiol.* 2007, 65 (6), 1444-1457.
7. Moreau R., Doeblert D., Welti R. i wsp.: The Identification of Mono-, Di-, Tri-, and Tetragalactosyl-diacylglycerols and their Natural Estolides in Oat Kernels, *Lipids* 2008, 43 (6), 533-548.
8. Hisamatsu Y., Goto N., Sekiguchi M. i wsp.: Oxylipins arabidopsides C and D from *Arabidopsis thaliana*, *J. Nat. Prod.* 2005, 68 (4), 600-603.
9. Kourtchenko O., Andersson M., Hamberg M. i wsp.: Oxo-Phytodieneic Acid-Containing Galactolipids in Arabidopsis: Jasmonate Signaling Dependence, *Plant Physiology* 2007, 145 (4), 1658.
10. Sugawara T., Miyazawa T.: Digestion of plant monogalactosyldiacylglycerol and digalactosyldiacylglycerol in rat alimentary canal, *J. Nutr. Biochem.* 2000, 11 (3), 147-152.
11. Moreau R., Hicks K.: The *in vitro* hydrolysis of phytosterol conjugates in food matrices by mammalian digestive enzymes, *Lipids* 2004, 39 (8), 769-776.
12. Mimee B., Labbe C., Pelletier R. i wsp.: Antifungal Activity of Flocculosin, a Novel Glycolipid Isolated from *Pseudozyma flocculosa*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005, 49 (4), 1597-1599.
13. Kuriyama I., Musumi K., Yonezawa Y. i wsp.: Inhibitory effects of glycolipids fraction from spinach on mammalian DNA polymerase activity and human cancer cell proliferation, *J. Nutr. Biochem.* 2005, 16 (10), 594-601.
14. Maeda N., Kokai Y., Ohtani S. i wsp.: Anti-Tumor Effect of Orally Administered Spinach Glycolipid Fraction on Implanted Cancer Cells, Colon-26, in Mice, *Lipids* 2008, 43 (8), 741-748.
15. Ramm W., Schatton W., Wagner-Döbler I. i wsp.: Diglucosyl-glycerolipids from the marine sponge-associated *Bacillus pumilus* strain AAS3: their production, enzymatic modification and properties, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2004, 64 (4), 497-504.
16. Hou C., Chen Y., Wu J. i wsp.: A Galactolipid Possesses Novel Cancer Chemopreventive Effects by Suppressing Inflammatory Mediators and Mouse B16 Melanoma, *Cancer Res.* 2007, 67 (14), 6907-6915.
17. Wang R., Furumoto T., Motoyama K. i wsp.: Possible Antitumor Promoters in *Spinacia oleracea* (Spinach) and Comparison of their Contents among Cultivars, *Biosci., Biotechnol., Biochem.* 2002, 66 (2), 248-254.
18. Shirahashi H., Murakami N., Watanabe M., et al., Isolation and identification of anti-tumor-promoting principles from the fresh-water cyanobacterium *Phormidium tenue*, *Chem. Pharm. Bull.* 1993, 41 (9), 1664-1666.
19. Tokuda H., Nishino H., Shirahashi H. i wsp.: Inhibition of 12-Tetradecanoylphorbol-13-acetate promoted mouse skin papilloma by digalactosyl diacylglycerols from the fresh water cyanobacterium *Phormidium tenue*, *Cancer Lett.* 1996, 104 (1), 91-95.
20. Andrianasolo E., Haramaty L., Vardi A. i wsp.: Apoptosis-Inducing Galactolipids from a Cultured Marine Diatom, *Phaeodactylum tricornutum*, *J. Nat. Prod.* 2008, 71, 1197-1201.
21. Quasney M., Carter L., Oxford C. i wsp.: Inhibition of proliferation and induction of apoptosis in SNU-1 human gastric cancer cells by the plant sulfolipid, sulfoquinovosyldiacylglycerol, *J. Nutr. Biochem.* 2001, 12 (5), 310-315.
22. Williams D., Sturgeon C., Roberge M. i wsp.: Nigriganosides A and B, Antimitotic Glycolipids Isolated from the Green Alga *Avrainvillea nigrigans* Collected in Dominica, *J. Amer. Chem. Soc.* 2007, 129 (18), 5822-5822.
23. Kikuchi H., Tsukitani Y., Manda T. i wsp.: Marine Natural Products. X. Pharmacologically Active Glycolipids from the Okinawan Marine Sponge *Phyllospongia foliascens* (PALLAS), *Chem. Pharm. Bull.* 1982, 30 (10), 3544-3547.
24. Larsen E., Christensen L.: Common Vegetables and Fruits as a Source of 1, 2-di-O- α -linolenyl-3-O- β -D-Galactopyranosyl-sn-Glycerol, a Potential Anti-Inflammatory and Antitumor Agent, *J. Food Lipids* 2007, 14 (3), 272-279.
25. Deliorman Orhan D., Hartevioğlu A., Küpeli E. i wsp.: *In vivo* anti-inflammatory activity of the crude extract and fractions from *Rosa canina* L. fruits, *J. Ethnopharmacol.* 2007, 112 (2), 394-400.
26. Wenzig E., Widowitz U., Kunert O. i wsp.: Phytochemical composition and *in vitro* pharmacological activity of two rose hip (*Rosa canina* L.) preparations, *Phytomedicine* 2008, 15 (10), 826-835.
27. Winther K., Rein E., Kharazmi A.: The anti-inflammatory properties of rose-hip, *Inflammopharmacology* 1999, 7 (1), 63-68.
28. Larsen E., Kharazmi A., Christensen L. i wsp.: An Antiinflammatory Galactolipid from Rose Hip (*Rosa canina*) that Inhibits Chemotaxis of Human Peripheral Blood Neutrophils *In Vitro*, *J. Nat. Prod.* 2003, 66 (7), 994-995.
29. Kharazmi A., Laboratory and preclinical studies on the anti-inflammatory and anti-oxidant properties of rosehip powder – Identification and characterization of the active component GOPO®, *Osteoarthritis Cartilage* 2008, 16, 5-7.
30. Rein E., Kharazmi A., Winther K.: A herbal remedy, Hyben Vital (stand. powder of a subspecies of *Rosa canina* fruits), reduces pain and improves general wellbeing in patients with osteoarthritis? A double-blind, placebo-controlled, randomised trial, *Phytomedicine* 2004, 11 (5), 383-391.
31. Winther K., Apel K., Thamsborg G.: A powder made from seeds and shells of a rose-hip subspecies (*Rosa canina*) reduces symptoms of knee and hip osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial, *Scand. J. Rheumatol.* 2005, 34 (4), 302-308.
32. Warholm O., Skaar S., Hedman E. i wsp.: The Effects of a Standardized Herbal Remedy Made from a Subtype of *Rosa canina* in Patients with Osteoarthritis: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial, *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* 2003, 64 (1), 21-31.
33. Christensen R., Bartels E., Altman R. i wsp.: Does the hip powder of *Rosa canina* (rosehip) reduce pain in osteoarthritis patients? – A meta-analysis of randomized controlled trials, *Osteoarthritis Cartilage* 2008, 16 (9), 965-972.
34. Mañez S., Del Carmen Recio M., Gil I. i wsp.: A Glycosyl Analogue of Diacylglycerol and Other Antiinflammatory Constituents from *Inula viscosa*, *J. Nat. Prod.* 1999, 62, 601-604.
35. Cateni F., Falsone G., Zilic J. i wsp.: Glyceroglycolipids from *Euphorbia nicaeensis* All. with antiinflammatory activity, *Arkivoc* 2004, 5, 54-65.
36. Ivanova A., Khozin-Goldberg I., Kamenarska Z. i wsp.: Lipophilic Compounds from *Euphorbia peplis* L. – a Halophytic plant from the Bulgarian Black Sea Coast., *Z. Naturforsch. Sect. C, Biosci.* 2003, 58 (11/12), 783-788.
37. Cateni F., Falsone G., Zilic J.: Terpenoids and Glycolipids from *Euphorbiaceae*, *Mini-Rev. Med. Chem.* 2003, 3, 425-437.
38. Shi Q., Su X., Kiyota H.: Chemical and Pharmacological Research of the Plants in Genus *Euphorbia*, *Chem. Rev.* 2008, 108, 4295-4327.
39. Bruno A., Rossi C., Marcolongo G. i wsp.: Selective *in vivo* anti-inflammatory action of the galactolipid monogalactosyldiacylglycerol, *Eur. J. Pharmacol.* 2005, 524 (1-3), 159-168.
40. Mishra P., Singh N., Ahmad G. i wsp.: Glycolipids and other constituents from *Desmodium gangeticum* with antileishmanial and immunomodulatory activities, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15 (20), 4543-4546.
41. Cateni F., Bonivento P., Procida G. i wsp.: Chemoenzymatic synthesis and antimicrobial activity evaluation of monogalactosyl diglycerides, *Eur. J. Med. Chem.* 2008, 43 (1), 210-221.
42. Pettit G., Bond T., Herald D. i wsp.: Isolation and structure of spongilipid from the Republic of Singapore marine porifera *Spongia cf. hispida*, *Can. J. Chem.* 1997, 75 (6), 920-925.
43. Jiang R., Hay M., Fairchild C. i wsp.: Antineoplastic unsaturated fatty acids from *Fijian macroalgae*, *Phytochem.* 2008, 69, 2495-2500.