

Eleuterozydy. Ich budowa, właściwości biologiczne i działanie lecznicze

Katedra i Zakład Farmakognozji, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum w Krakowie
Kierownik Katedry i Zakładu: prof. dr hab. Zbigniew Janeczko

ELEUTHEROSIDES. THEIR STRUCTURE, BIOLOGICAL PROPERTIES AND MEDICAL ACTIVITY

SUMMARY

Eleutherosides are the main, chemical compounds present in species from the Eleutherococcus Maxim. genus, which are native to eastern Asia and north Russia. The first attempts at their isolation and identification were taken in the 60's of the twentieth century. As a result of this, seven compounds were isolated, called as eleutherosides A, B, C, D, E, F, G. In the 70's additional compounds were obtained, such as eleutherosides I, K, L, M, B2, B3, B4. However, their final, chemical structure was elucidated in the late 70's and early 80's. Taking into account an aglycone type, eleutherosides were divided into four groups of secondary metabolites, such as glycosides of coumarin, lignans, sterols and triterpenic acids. Main attention in pharmacokinetic and pharmacological studies was given to eleutheroside B and E, the compounds that occur in the predominantly. According to FP IX, their total content can not be less than 0.08% (80 mg/100 g of raw material). Eleutherosides have a wide biological activity. They are the only ones among the few compounds that have adaptogenic property, moreover they improve nonspecific body resistance and resistance to stressors internal and external origin. As well as, they improve the learning and mental processes.

KEY WORDS: *ELEUTHEROSIDES – ISOLATION – SPECTRAL DATA – ADAPTOGEN – ACTIVITY*

Historia i budowa chemiczna eleuterozydów

Eleuterozydy to główne związki czynne obecne w gatunkach z rodzaju *Eleutherococcus* Maxim. Rośliny te w stanie naturalnym występują na terenach wschodniej Azji i północnej Rosji. W Polsce są kulturowane w ogrodach botanicznych, np. w ogrodzie botanicznym w Rogowie. Do tej grupy związków należą eleuterozydy A, B, B1, B4, C, E, E1, I, K, L i M. Związki te głównie kumulowane są w korzeniach, dodatkowo ich występowanie stwierdzono w liściach i owocach (1-4).

Gatunki z rodzaju *Eleutherococcus* są wykorzystywane w tradycyjnej medycynie chińskiej od ponad 4000 lat. Dane piśmiennictwa o potwierdzonej naukowo aktywności biologicznej są datowane na lata 40. XX w. Pionierem był Lazarev, którego

wyniki prac zapoczątkowały szerokie zainteresowanie naukowców i opinii publicznej właściwościami tych roślin. Głównym obiektem badań był *E. senticosus* (ryc. 1), gatunek który zaliczono do grupy tzw. roślin adaptogennych, czyli takich, które mają zdolność zwiększania odporności nieswoistej organizmu na czynniki fizyczne, chemiczne i biologiczne. Mimo tego, wciąż nie rozwiązany problemem pozostało określenie, co odpowiada za takie działanie (5).

Historia izolacji i identyfikacji eleuterozydów rozpoczyna się w latach 60. XX w. Związki te po raz pierwszy zostały otrzymane z korzeni *E. senticosus* i częściowo zidentyfikowane w 1965 roku przez Ovodova i wsp. (6). Wyizolowano siedem związków i zakwalifikowano je do nowej grupy glikozydów określonych wspólną nazwą eleuterozydy. Każdemu związkowi przypisano symbol klasyfikacyjny w postaci litery i ewentualnie cyfry, świadczącej o podgrupie. Wyizolowane związki nazwano eleuterozydami: A, B, C, D, E, F i G. Stwierdzono, że udział poszczególnych związków we frakcji glikozydowej jest następujący 8:30:10:12:4:2:1. Metody analityczne stosowane



Ryc. 1. *Eleutherococcus senticosus*.

w latach 60. nie pozwoliły na określenie pełnej struktury chemicznej tych związków. Opierano się głównie na technice chromatografii cienkowarstwowej, widmach IR i UV oraz określeniu punktu topnienia (MP), zarówno izolatów, jak i produktów ich kwaśnej i zasadowej hydrolizy.

Spośród siedmiu związków, eleuterozydy B i E zostały wyizolowane w czystej, krystalicznej formie, co pozwoliło na wstępne określenie ich budowy oraz własności chemicznych i fizykochemicznych. Związki te bardzo łatwo krystalizują w czystej postaci z ekstraktu metanolowego.

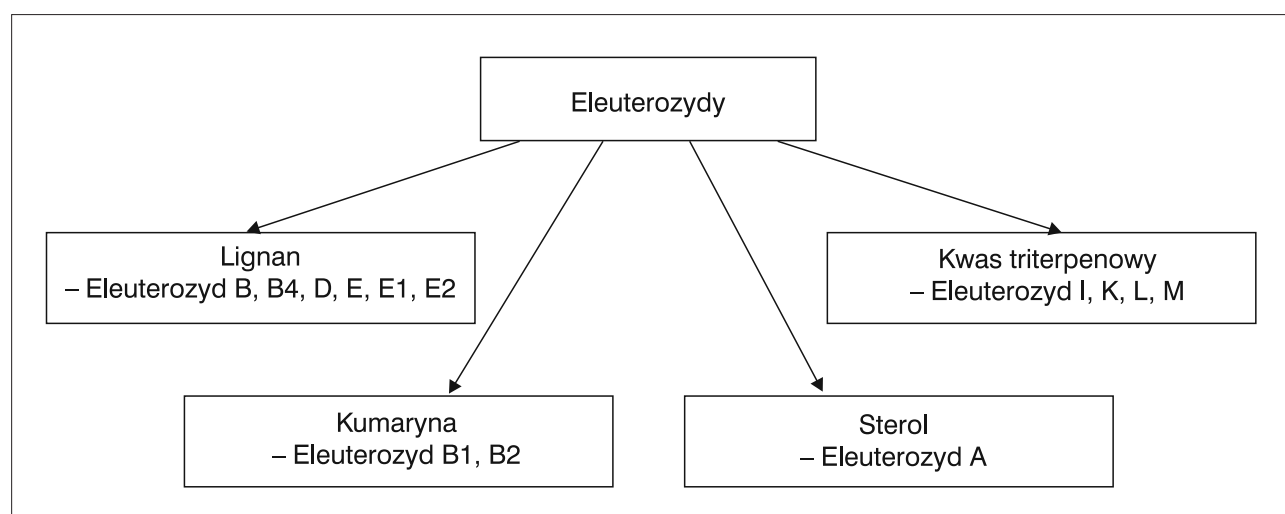
Pierwsze doniesienia na temat budowy chemicznej eleuterozydu B sugerowały, że jest mono- lub diglikozydem, natomiast eleuterozyd E tri- lub tetraglikozydem. Część cukrową eleuterozydu B i E stanowiła D-glukoza. Na podstawie analizy widm IR oraz określeniu stopnia rozpuszczalności stwierdzono, że eleuterozyd B jest najprawdopodobniej diglikozydem. Eleuterozyd B dobrze rozpuszcza się w metanolu, nieco słabiej w chloroformie i octanie etylu, natomiast eleuterozyd E rozpuszcza się tylko w wodnym roztworze metanolu. Niestety nie udało się określić budowy części aglikonowej. Kolejnym nierozwiązanym problemem pozostało określenie tożsamości akantozydu D z eleuterozydem E. Dopiero w latach 80. stwierdzono, że jest to ten sam związek (5, 6).

W 1971 roku Frolova i wsp. (7) wyizolowali z liści *E. senticosus* kolejne glikozydy. Analizy chromatograficzne pozwoliły na wykluczenie strukturalnego podobieństwa do związków występujących w korzeniach. Nowe składniki nazwano eleuterozydami H, L i M, klasyfikując je zgodnie ze wzrostem ich

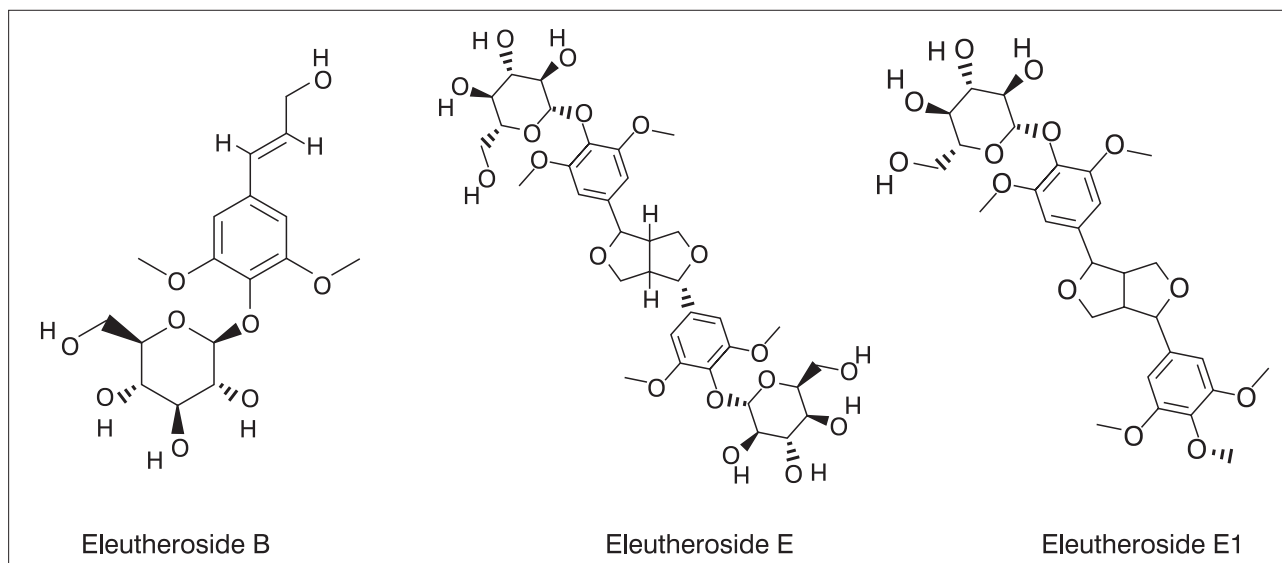
polarności. Metylacja eleuterozydu H doprowadziła do izolacji dwóch eleuterozydów – I i K, co sugeruje, że eleuterozyd H jest mieszaniną tych związków. Ich aglikonem jest kwas oleanolowy. Eleuterozydy I i K są diglikozydami L-ramnozy i L-arabinozy. Natomiast eleuterozydy L i M są triglikozydami D-glukozy, L-ramnozy i L-arabinozy w stosunku molowym 2:2:1.

W tym samym roku inny zespół badawczy wyizolował cztery związki, które zakwalifikowano do grupy B. W obrębie tej grupy zidentyfikowano eleuterozyd B, eleuterozyd B2, B3 i B4 (7-9).

Pomimo wielu badań prowadzonych nad tymi związkami, przez ponad 10 lat od czasu izolacji, dokładne struktury chemiczne większości eleuterozydów pozostawały nieokreślone. Dopiero na przełomie lat 70. i 80. na podstawie analiz spektralnych ostatecznie ustalono struktury chemiczne tych związków. Biorąc pod uwagę rodzaj aglikonu, wśród eleuterozydów wyróżniono cztery grupy metabolitów wtórnych, takie jak glikozydy kumaryn, lignanów, steroli i kwasów triterpenowych (ryc. 2, 3). Ich nazwy chemiczne są następujące: A (3-O-glukozyd- β -sitosterolu), B (4- β -D-glukozyd syryngarezynolu), C (α -D-galaktozyd etylu), D i E (izomery; 4,4''-O- β -D-diglucozyd (-)-syryngarezynolu), L (α -L-Rha-(1 \rightarrow 4)- α -L-Ara-(1 \rightarrow 3)-O-R-C(O)-O-Gl-(1 \rightarrow 28)-D- β -Gl-(1 \rightarrow 6)-D-Rha-(1 \rightarrow 4)- β -L- α)) kwasu oleanowego, M ((α -L-Rha-(1 \rightarrow 2)- α -L-Ara-(1 \rightarrow 3)-O-R-C(O)-O-Gl-(1 \rightarrow 28)-D- β -Glc-(1 \rightarrow 6)-D-Rha-(1 \rightarrow 4)- β -L- α)) kwasu oleanowego, I (α -L-Rha-(1 \rightarrow 4)- α -L-Ara-(1 \rightarrow 3)-O-R-CO₂H) kwasu oleanowego i K (α -L-Rha-(1 \rightarrow 2)- α -L-Ara-(1 \rightarrow 3)-O-RCO₂H) kwasu oleanowego (10-13).



Ryc. 2. Klasyfikacja eleuterozydów z uwzględnieniem budowy aglikonu.



Ryc. 3. Struktury chemiczne wybranych eleuterozydów.

Dystrybucja i właściwości farmakokinetyczne

Istotną cechą eleuterozydów jest ich dobra przyswajalność. Badania z wykorzystaniem eleuterozydu B (14, 15) ujawniły, że maksymalny czas jego akumulacji w organizmie wynosi do 4 godz. W zależności od stężenia gromadzącego się związku, miejsca jego akumulacji podzielono odpowiednio na trzy grupy. Do pierwszej grupy, o najwyższym stężeniu, należą wątroba, nerki i trzustka, do drugiej przysadka, nadnercza i śledziona, natomiast do trzeciej serce, jądra, mózg i grasica. Kolejnym krokiem było określenie dystrybucji eleuterozydu B we frakcjach subkomórkowych wątroby, nadnerczy, grasicy i trzustki. Zauważono, że 65-67% gromadzi się w cytozolu komórek wątroby, 83-85% we frakcji mikrosomowej nadnerczy i 55% w tej samej frakcji grasicy. Z kolei głównym miejscem akumulacji w trzustce były jądra komórkowe (53-55%). Późniejsze badania (16) potwierdziły te doniesienia. Głównym miejscem gromadzenia się eleuterozydu B w organizmie były nerki, wątroba i serce, z kolei eleuterozydu E – wątroba, nerki, śledziona i serce. Biologiczny okres półtrwania wyniósł 2,4 i 4,6 godz., odpowiednio dla eleuterozydu B i E.

Właściwości lecznicze

Właściwości lecznicze eleuterozydów są przedmiotem badań od ponad 60 lat. Niestety przeważająca liczba badań jest prowadzona na ekstraktach i korelowana z zawartością eleuterozydów B i E.

Na sumaryczną zawartość tych związków dokonuje się również standaryzacji preparatów z *Eleutherococcus*. Według FP IX ich zawartość nie może być niższa niż 0,08%. Dane dotyczące aktywności pojedynczych eleuterozydów są niewielkie i sprzeczne. Niektórzy autorzy uważają, że efekt prewencyjny, czy leczniczy jest wynikiem ich synergistycznego działania, inni twierdzą, że to eleuterozydy B i E wyznaczają główny kierunek aktywności (17).

Eleuterozyd B

Eleuterozyd B wykazuje kilka udokumentowanych naukowo właściwości zapobiegawczych i leczniczych. Ze względu na jego właściwości ochronne przed promieniowaniem jonizującym, ekstrakty z *E. senticosus* były stosowane po wybuchu jądrowym w Czarnobylu. Podanie eleuterozydu zmniejsza śmiertelność z powodu choroby popromiennej, zmniejsza leukopenię, zwiększa liczbę płytek krwi, jak również wpływa na obniżenie stopnia hemolizy związanej z konfliktem serologicznym. Wykazano, że związek ten zmniejsza również stężenie cholesterolu we krwi (5).

Henderson i wsp. (18), zbadali wpływ eleuterozydu B na stymulację ekspresji genów różnych izoform cytochromu P450 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4-BzRes, CYP3A4-BFC). Wykazano, że wartość IC_{50} jest wyższa niż 200 μmol , co wskazuje na bardzo słabą inhibicję w porównaniu z ketokonazolem (0,03-0,041 μmol). Autorzy sugerują, że stosowanie eleuterozydu B z innymi lekami nie powinno mieć wpływu na metabolizm tych leków, ze

względu na brak efektu inhibicji cytochromu P450 przez eleuterozyd B.

Dane piśmiennictwa z ostatnich lat sugerują, że eleuterozyd B może działać neuroochronnie. Badania przeprowadzone na komórkach PC12, jako modelowej linii różnicowania się neuronów, wykazały, że omawiany związek hamował indukcję apoptozy, zwiększając przeżycie komórek o 102% (liczba komórek apoptotycznych 24%) w stężeniu 10 $\mu\text{g/ml}$. W stężeniu 40 i 80 $\mu\text{g/ml}$ eleuterozyd B działał cytotoksycznie, zmniejszając przeżywalność komórek do ok. 80%. Stosując ten sam model badawczy, eleuterozyd B w stężeniu 10 $\mu\text{g/ml}$ hamował uwalnianie dehydrogenazy mleczanowej (LDH), zmniejszał aktywność kaspazy-3 oraz zwiększał aktywność dysmutazy nadtlenkowej (SOD). Powyższe wyniki sugerują, że eleuterozyd B może działać neuroochronnie poprzez inhibicję apoptozy w neuronach (19).

Eleuterozyd B wykazuje wysoką aktywność przeciwutleniającą. Wykazano, że związek ten redukuje wolny rodnik DPPH^{*} przy wartości IC_{50} 4 μmol (20).

Eleuterozyd E

Dane piśmiennictwa odnośnie aktywności eleuterozydu E są niewielkie. Huang i wsp. (21) wykazali, że związek ten wpływa na zmiany behawioralne myszy, poddanych 72 godz. modelowi bezsenności. Eleuterozyd E był podawany dożyłkowo w stężeniu 10 i 50 mg/kg przez 10 dni, godzinę przed każdym testem behawioralnym. Wyniki badań sugerują, że eleuterozyd E może przywracać poznawczo-behawioralne zaburzenia wywołane 72 godz. pozbawieniem snu. Wpływa na poziom neuroprzekazników, takich jak serotonina i dopamina. W wyniku aplikacji 10 i 50 mg/kg eleuterozydu E, poziom serotoniny wzrósł o 108 i 195 jedn. w stosunku do kontroli (96 jedn.), natomiast dopaminy o 101 jedn. w stosunku do kontroli (98 jedn.). Zauważono, że w grupie zwierząt otrzymujących 50 mg/kg badanego związku, poziom dopaminy nieznacznie zmalał (94 jedn.). U wszystkich osobników stwierdzono przyrost masy ciała po 10-dniowej aplikacji eleuterozydu E. Autorzy badań sugerują, że mechanizm działania eleuterozydu E obejmuje aktywność antyoksydacyjną i regulację syntezy monoamin (serotonina, dopamina) w hipokampie (21).

Eleuterozyd E, podobnie jak eleuterozyd B, nie ma bezpośredniego wpływu na stymulację ekspresji genów enzymów wchodzących w skład cytochromu P450 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4-BzRes, CYP3A4-BFC). Uzyskano relatywnie wysoką wartość IC_{50} (200 μmol) w stosunku do ketokonazolu (0,03-0,041 μmol) (18).

Eleuterozyd E wykazuje słaby potencjał przeciwutleniający. W teście z użyciem DPPH procent inhibicji przy stężeniu 400 μmol wyniósł 17,1% w porównaniu dla kwasu L-askorbinowego 99,8% (20).

Gatunki z rodzaju *Eleutherococcus* są od wieków cenionym i uznanym przez ludność Azji surowcem zielarskim. Stały wzrost zainteresowania naukowców tą grupą roślin ze szczególnym uwzględnieniem pojedynczych eleuterozydów, powinien w niedalekiej przyszłości dostarczyć dokładniejszych danych na temat ich właściwości leczniczych.

Piśmiennictwo

1. Frolova GM, Ovodov YS. Triterpene glycosides of *Eleutherococcus senticosus* leaves. II. Structure of eleutherosides I, K, L and M. *Khim Prir Soed* 1971; 5:618-22.
2. Dayna LX, Ikhlas LA. A new lignan glycoside from *Eleutherococcus senticosus*. *Planta Med* 2001; 67:776-8.
3. Kustrak D. Siberian ginseng or the root from taiga-*Eleutherococcus senticosus*. *Farm Glasn* 1993; 49:1-7.
4. Załuski D, Smolarz HD, Szpilewska M. Eleutherosides in aerial parts of *Eleutherococcus* species cultivated in Poland. *JAOAC* 2011; 94(5):1-5.
5. Davydov M, Krikorian AD. *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. i Maxim.) Maxim. (*Araliaceae*) as an adaptogen: a closer look. *J Ethnopharmacol* 2000; 72:345-93.
6. Ovodov YS, Ovodova RG, Solov'eva TF i wsp. The glycosides of *Eleutherococcus senticosus* Maxim. Isolation and some properties of eleutherosides B and E. *Khim Prir Soed* 1965; 1(1):3-7.
7. Frolova GM, Ovodov YS, Suprunov NI. Triterpene glycosides of the leaves of *Eleutherococcus senticosus*. I. Isolation and general characteristics. *Khim Prir Soed* 1971; 5:614-8.
8. Ovodov YS, Frolova GM, Nefedova MY i wsp. The glycosides of *Eleutherococcus senticosus*. II. The structure of eleutherosides A, B1, C and D. *Khim Prir Soed* 1967; 3(1):63-4.
9. Ovodov YS, Frolova GM, Dzienko AK i wsp. Structure and properties of eleutheroside B, the glycoside of *Eleutherococcus senticosus* Maxim. *Khim Prir Soed* 1969; 6:1370-2.
10. Nishibe S, Kinoshita H, Takeda H. Phenolic compounds from stem and bark of *Acanthopanax senticosus* and their pharmacological stressed rats. *Chem Pharm Bull* 1990; 38:1763-5.
11. Hikino H, Takahashi M, Otake K i wsp. Isolation and hypoglycemic activity of eleutherosides A, B, C, D, E, F and G: glycans of *Eleutherococcus senticosus* roots. *J Nat Prod* 1986; 49(2):293-7.
12. Wagner H, Heur YH, Obermeier A i wsp. Die DC - and HPLC - Analyse der *Eleutherococcus* Droge. *Planta Med* 1982; 44:193-8.
13. Song MS, Lee YW, Kim JD i wsp. Extraction of acanthoside D in *Acanthopanax senticosus* by supercritical fluid. *Hwahak Konghak* 2003; 41(2):207-12.
14. German AV, Bezdetko GN, Mitrokhin YI i wsp. Investigation of the pharmacokinetics and mechanism of action of *Eleutherococcus* glycosides. Distribution of eleutherosides B in organs and in subcellular fractions. *Khim Farm Zhurn* 1982; 16(1):26-30.
15. Shamovskii IL, Ovchinnikov AA, Barenboim GM. Investigation of the pharmaceuticals and mechanism of action of *Eleutherococcus* glycosides. Calculation of the conformations of therapeutic glycosides (with eleutherosides as examples). *Khim Farm Zhurn* 1982; 16:31-8.
16. Feng S, Hu F, Zhao J i wsp. Determination of eleutheroside E and eleutheroside B in rat plasma and tissue by high-performance liquid chromatography using solid-phase extraction and photodiode array detection. *Eur J Pharm Biopharm* 2006; 62:315-20.
17. Załuski D, Smolarz HD. *Eleutherococcus senticosus* - przykład rośliny adaptogennej. *Post Fitoter* 2008; 4:240-6.
18. Henderson GL, Harkey MR, Gershwin ME i wsp. Effects of ginseng components on c - DNA - expressed cytochrome P450 enzyme catalytic activity. *Life Sci* 1999; 15:209-14.
19. Fang L,

Dong Y, Deng L i wsp. Neuroprotective effect of eleutheroside B on 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced apoptosis in PC12 cells. *Neur Regen Res* 2011; 18:1375-9. **20.** Lee S, Son D, Ryu J i wsp. Antioxidant activities of *Acanthopanax senticosus* stems

and their lignan components. *Arch Pharm Res* 2004; 27:106-10. **21.** Huang LZ, Wei L, Zhao HF i wsp. The effect of eleutheroside E on behavioral alterations in murine sleep deprivation stress model. *Eur J Pharmacol* 2011; 658:150-5.

otrzymano/received: 29.01.2013
zaakceptowano/accepted: 05.02.2013

Adres/address:
*dr Daniel Załuski
Katedra i Zakład Farmakognozji
Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków
tel.: + 48 (12) 620-55-60
e-mail: daniel.zaluski@uj.edu.pl