

Owoce maliny właściwej i maliny zachodniej źródłem substancji biologicznie aktywnych**

Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny
Kierownik Katedry i Zakładu: dr hab. Miroslawa Krauze-Baranowska, prof. nadzw.

FRUCTUS RED RASPBERRY AND BLACK RASPBERRY AS A SOURCE OF BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES

SUMMARY

Rubus idaeus L. (red raspberry) and Rubus occidentalis L. (black raspberry) are a source of edible fruits containing anthocyanins and ellagitannins. There are over 100 cultivars of red raspberries known across Europe. As opposed to red raspberries, black raspberries are cultivated in North America, mainly on the east coast of USA. The fruits of both species are rich in cyanidin derivatives in the form of mono-, di-, and triglucosides and ellagitannins – mainly ellagic acid derivatives: sanguin H6 and lambertianin C. These compounds contribute to the biological activity of the fruits of red and black raspberries. In several in vitro and in vivo models antioxidant, antimicrobial and chemopreventive properties of the fruits of both species were confirmed. Research conducted in the recent years indicates the possibility of use of raspberry fruits in treatment of rheumatoid arthritis as well as gastric ulcers.

KEY WORDS: RUBUS IDAEUS – RUBUS OCCIDENTALIS – CHEMICAL COMPOSITION – BIOLOGICAL ACTIVITY

Rodzaj *Rubus L.* (jeżyna) (*Rosaceae*) obejmuje około 17 podrodzajów i 740 gatunków, spośród których około 100 występuje na terenie Europy Zachodniej i Środkowej (1). Do najbardziej znanych i cenionych w Europie przedstawicieli podrodzaju *Idaeobatus Focke* należy *Rubus idaeus L.* (malina właściwa) oraz *Rubus chamamerosus L.* (malina morożka). Natomiast gatunek *Rubus occidentalis L.* (malina czarna, malina zachodnia), występuje w stanie naturalnym w Ameryce Północnej, głównie we wschodnich stanach USA, gdzie są również prowadzone jego uprawy. Walory smakowe i właściwości odżywcze owoców decydują o dużej popularności maliny właściwej oraz maliny zachodniej. Polska zajmuje pierwsze miejsce w produkcji owoców maliny właściwej w Europie oraz trzecie na świecie (2).

Nazwa gatunku *Rubus idaeus*, nadana przez Linneusza, wywodzi się od góry Ida (obecnie Turcja), którą intensywnie porastały krzewy malin (3, 4). Owoce

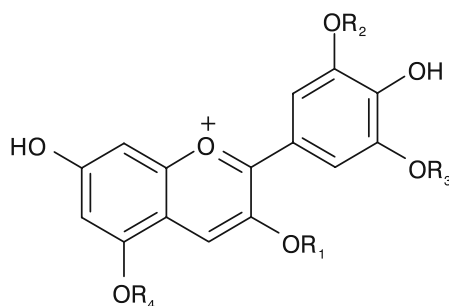
maliny właściwej znane były już starożytnym Grekom, około 370 lat p.n.e. Natomiast rosnące w Pompejach krzewy maliny były introdukowane przez Rzymian z terenów południowej Troi około 65 lat p.n.e. Grecki lekarz Hipokrates (460-377 p.n.e.), jak również lekarze rzymscy, wykorzystywali właściwości napotne owoców maliny (3). W dziele Dioskoridesa zatytułowanym „De Materia Medica”, malina właściwa, obok jeżyny, jest źródłem surowców (owoce, liście, pędy), głównie o działaniu ściągającym, przeciwzapalnym oraz przeciwbiegunkowym.

Uprawę maliny właściwej zapoczątkowano w ogródkach przyklasztornych późnego Średniowiecza. Jednak dopiero z końcem XVIII w. są wymieniane pierwsze odmiany hodowlane (3). Obecnie znanych jest kilkaset odmian uprawowych maliny właściwej, głównie o czerwonej barwie owoców, a ich liczba stale wzrasta (2). Maliny w zależności od barwy owoców klasyfikowane są w 3 grupach: odmiany *R. idaeus* o owocach czerwonych i żółtych – pozbawionych antocyjanów, np. Poranna Rosa oraz o owocach czarnych – odmiany *R. occidentalis*.

Związkami chemicznymi charakterystycznymi dla owoców *Rubus idaeus L.* i *Rubus occidentalis L.* są związki polifenolowe, spośród których dominującymi są elagotaniny i antocyjany. Zespół antocyjanów tworzą formy glikozydowe (mono-, di- i tri-) przede wszystkim pochodne aglikonu cyjanidyny, obok obecnych, w zależności od odmiany, w bardzo niskich i zmiennych stężeniach, pochodnych pelargonidyny, malwinidyny, peonidyny lub delfinidyny (ryc. 1).

Owoce gatunków z rodziny *Rosaceae* (maliny, truskawki, jeżyny) są bogatym i jedynym źródłem elagotanin w codziennej diecie (5, 6). W obrębie rodzaju *Rubus*, przede wszystkim w owocach maliny morożki oraz owocach maliny właściwej, elagotaniny stanowią dominującą grupę związków, w przeciwieństwie do rodzaju *Fragaria* (truskawka), w którym są wymieniane jako główne, ale po antocyjanach (7). Według

**Praca została wykonana w ramach grantu finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego Nr 1790/B/P01/2008/35.



Związek	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Cyjanidyna	H	OH	H	H
3-O-Glukozyd cyjanidyny	glukoza	OH	H	H
3-O-Rutynozyd cyjanidyny	glukoza + ramnoza	OH	H	H
3-O-(2 ^o -Glukozylorutynozyd) cyjanidyny	glukoza + ramnoza + glukoza	OH	H	H
3-O-(2 ^o -Ksylozylorutynozyd) cyjanidyny	ksyloza + ramnoza + glukoza	OH	H	H
3-O-Soforozyd cyjanidyny	glukoza + glukoza	OH	H	H
3-O-Sambubiozyd cyjanidyny	glukoza + ksyloza	OH	H	H
3-O-Arabinozyd cyjanidyny	arabinoza	OH	H	H
3,5-O-Diglukozyd cyjanidyny	glukoza	OH	H	glukoza
3-O-Glukozyd pelargonidyny	glukoza	H	H	H
3-O-Rutynozyd pelargonidyny	glukoza + ramnoza	H	H	H
3-O-Soforozyd pelargonidyny	glukoza + glukoza	H	H	H
3-O-(2 ^o -Glukozylorutynozyd) pelargonidyny	glukoza + ramnoza + glukoza	H	H	H
3,5-O-Diglukozyd pelargonidyny	glukoza	H	H	glukoza
3-O-Glukozyd malwidyny	glukoza	OCH ₃	OCH ₃	H
3-O-Glukozyd delfinidyny	glukoza	OH	OH	H
3-O-Rutynozyd peonidyny	glukoza + ramnoza	OCH ₃	H	H

Ryc. 1. Wzory strukturalne antocyjanów występujących w owocach *R. idaeus* i *R. occidentalis*.

Landete i wsp. (7) elagotaniminy stanowią 85% zespołu związków czynnych owoców maliny właściwej, przy udziale antocyjanów na poziomie około 23% i około 2% innych związków polifenolowych, takich jak flawonoidy, fenolokwasy, czy pochodne flawan-3-olu. W owocach maliny morożki zawartość elagotanimin wynosi około 90%, natomiast w owocach truskawki około 30% (7).

Elagotaniminy są estrami kwasu heksahydroksydifenylowego (HHDP), węglowodanów (glukoza) i fenolokwasów (kwas chinowy) (5, 8). Jedną z właściwości elagotanimin jest ich hydroliza w środowisku kwaśnym i zasadowym, z uwolnieniem HHDP, który przekształca się (laktonizacja) w kwas elagowy (5). Do grupy elagotanimin zaliczane są związki o charakterze

monomerów, oligomerów oraz złożonych polimerów. W zespole owoców maliny właściwej i maliny zachodniej jest to przede wszystkim sangwina H-6 oraz towarzysząca jej, prawie w trzykrotnie niższych stężeniach, lambertianina C (8). Według Rao i wsp. (9) sangwina H-6 jest tetramerem, utworzonym w wyniku eterowego wiązania między jedną z grup hydroksylowych reszty galoilowej jednego fragmentu, a ugrupowaniem 4,6-HHDP związanym w pozycji C-4 szkieletu glukozy drugiego fragmentu cząsteczki. Ugrupowanie to, znane jako sangwisorboilowe, jest spotykane jedynie w elagotaniminach z rodzaju *Sanguisorba* i *Rubus*. Dotychczas w zespole elagotanimin w owocach wykryto w niewielkich ilościach również lambertianinę D (10), nobotaniminę A/malabatrinę B oraz sangwinę H-10 (6),

sangwinę H-2 (11) oraz potentylinę/kazuaryktynę (10). W owocach maliny elagotaniny występują przede wszystkim w pestkach (12).

Ponadto w owocach maliny są obecne kwasy organiczne, w tym fenolowe (galusowy, protokatechowy, kawowy, salicylowy, ferulowy, synapinowy, syringowy, cynamonowy, wanilinowy oraz kwas elagowy wolny i w formie koniugatów z pentozami i acetylpentozami), flawonole (3-O-glukuronidy kemferolu i kwercetyny, 3-O-rutynozyd, 3-O-galaktozyloramnozyd, 3,4'-O-diglukozyd i 3-O-glukozyd kwercetyny, tilirozyd, kwercetyna, kemferol, mirycetyna) oraz flawan-3-ole (katechina, epikatechina, procyanidyna B₂, propelargonidyna, procyanidyna jako dimery i trimery o typie wiązania B).

Owoce maliny właściwej i maliny czarnej są bogatym źródłem makroelementów, w tym potasu (K) (177-145 mg/100 g świeżej masy) oraz wapnia (Ca) (25-35 mg/100 g ś.m.), magnezu (Mg) (10-22 mg/100 g ś.m.) i cynku (Zn) (0,13-0,14 mg/100 g ś.m.). Jednocześnie w wyższych stężeniach w owocach maliny czarnej występują mikroelementy: miedź (Cu) (0,022 mg/100 g ś.m.) i żelazo (Fe) (0,19 mg/100 g ś.m.), co może mieć znaczenie w profilaktyce niedokrwistości. Natomiast w owocach maliny właściwej oznaczono wyższe zawartości manganu Mn (0,49 mg/100 g ś.m.). W badaniach porównawczych zawartość Mn w soku z owoców maliny czerwonej była 10-krotnie wyższa od zawartości tego mikroelementu w sokach z owoców porzeczek czarnej i czerwonej, pokrywając 50% dziennego zapotrzebowania (13).

Z obecnością związków polifenolowych, przede wszystkim wysokich stężeń antocyjanów i elagotanin, wiąże się aktywność biologiczną i farmakologiczną owoców *Rubus idaeus* i *Rubus occidentalis*, która obejmuje, m.in. działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne, przeciwdrobnoustrojowe oraz przeciwnowotworowe.

Aktywność antyoksydacyjna

Potencjał antyoksydacyjny produktów żywnościowych jest uważany za wskaźnik ich działania prozdrowotnego (14). Owoce odmian maliny właściwej (15-21) oraz maliny czarnej (7, 12, 22-25) są najczęściej cenione ze względu na ich wysoki potencjał antyoksydacyjny. Właściwości antyoksydacyjne wspomagają naturalne systemy chroniące komórki przed działaniem wolnych rodników.

W badaniach przesiewowych działania antyoksydacyjnego szeregu surowców żywnościowych pochodzenia roślinnego, owoce maliny charakteryzowały się najwyższym potencjałem antyoksydacyjnym (26). W teście DPPH wykazano, że spośród badanych so-

ków z owoców jagodowych, sok pozyskiwany z owoców maliny czarnej wyróżniał się, po soku z owoców porzeczek czarnej, wysoką zawartością związków polifenolowych oraz silnymi właściwościami antyoksydacyjnymi. Aktywność zmiatania wolnych rodników malała w kolejności: sok z owoców porzeczek czarnej > sok z owoców maliny czarnej > sok z owoców jagody czarnej > sok z owoców maliny właściwej > sok z owoców porzeczek czerwonej (27).

Właściwości antyoksydacyjne owoców maliny są skorelowane z frakcją elagotanin oraz frakcją antocyjanów (28, 29). Udział poszczególnych składników zespołu polifenolowego w aktywności antyoksydacyjnej owoców maliny właściwej wynosi: 50% elagotanin (w tym ok. 35% sangwina H-6 i 15% lambertianina C), 25% antocyjanów oraz 20% witaminy C (30).

Właściwości antyoksydacyjne frakcji antocyjanów są zmienne i warunkowane ich poziomem zawartości, stopniem hydroksylacji oraz glikozydacji. Aktywność antyoksydacyjna antocyjanów wzrasta wraz ze zmniejszaniem się liczby reszt cukrowych w cząsteczce i jest najsilniejsza dla wolnych aglikonów (7, 27, 31, 32). Wśród antocyjanów, pochodne cyjanidyny charakteryzują się najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi (17).

O potencjale antyoksydacyjnym owoców maliny decydują również flawonole (głównie pochodne kwercetyny), jakkolwiek są one obecne w niskich stężeniach. W badaniu 17 odmian uprawowych maliny właściwej hodowanych w Finlandii stwierdzono, że potencjał antyoksydacyjny owoców jest skorelowany z zawartością wolnego kwasu elagowego. Kwas elagowy jest produktem hydrolizy elagotanin (33) i proces ten może zachodzić w warunkach *in vivo*, wzmagając właściwości antyoksydacyjne owoców. Według Vuorela i wsp. (21) kwas elagowy jest bardzo silnym zmiataczem wolnych rodników, wykazując również działanie antyoksydacyjne wobec białek liposomów oraz hamując proces utleniania LDL (Low Density Lipoprotein) (21). Stwierdzono jednak, że w porównaniu do kwasu elagowego i innych związków obecnych w owocach malin, najsilniejszy efekt antyoksydacyjny wobec białek liposomów wykazują antocyjany (21).

Aktywność przeciwzapalna i przeciwreumatyczna

W badaniach *in vitro* wykazano, że związki obecne w owocach maliny wykazują właściwości przeciwzapalne. W komórkach linii makrofagów RAW264.7 indukowanych LPS (lipopolisacharyd) w obecności ekstraktu z owoców maliny czarnej obserwowano spadek poziomu tlenu azotu oraz wzrost aktywności enzymów

antyoksydacyjnych – dysmutazy nadtlenkowej i peroksydazy glutationowej. Aktywność przeciwzapalna owoców przejawia się hamowaniem aktywności enzymów stanu zapalnego: oksygenaz COX-1 i COX-2 (34-36).

Antocyjany występujące w owocach maliny właściwej hamują aktywność cyklooksygenazy na poziomie niesterydowych leków przeciwzapalnych – naproksenu i ibuprofenu. Aktywność COX-1 była hamowana na poziomie 45,8%, natomiast COX-2 na poziomie 40,5% (36). Aktywność przeciwzapalna owoców jest wiązana przede wszystkim z obecnością pochodnych aglikonu – cyjanidyny, która wykazuje działanie przeciwzapalne silniejsze od aspiryny (37). Vuorela i wsp. (21) badali hamowanie powstawania prostaglandyny E₂ (PGE₂) przez frakcję antocyjanową i elagotaninową z owoców *R. idaeus*. W stężeniach 20 i 50 µg/ml frakcja elagotanin hamowała powstawanie PGE₂ w 34,6%, natomiast w przypadku antocyjanów PGE₂ była hamowana w 50,4% (w stężeniu 20 µg/ml) oraz 70,9% (w stężeniu 50 µg/ml).

W dwóch modelach *in vitro* i *in vivo* oceniano właściwości przeciwreumatyczne ekstraktu z owoców maliny właściwej wzbogaconego w związki polifenolowe i standaryzowanego w zakresie całkowitej zawartości fenoli, antocyjanów i elagotanin (RRE). Reumatoidalne zwyrodnienie zapalenie stawów jest chorobą przewlekłą o charakterze autoimmunologicznym i charakteryzuje ją stan zapalny stawów z towarzyszącą mu destrukcją chrząstki, jako rezultatu utraty dwóch głównych składników o charakterze protein – proteoglikanu i kolagenu typu II (CII). Są one odpowiedzialne za biomechaniczne właściwości chrząstki. Podczas gdy utrata proteoglikanu zachodzi we wstępnej fazie degradacji chrząstki i jest procesem odwracalnym, to degradacja CII jest nieodwracalna i prowadzi do utraty prawidłowej funkcji stawów.

Celem badań była ocena efektów przeciwzapalnych i chroniących chrząstkę stawową w modelu *in vitro* z hodowlą chrząstki wołowych przegród nosowych oraz w modelu *in vivo* z adjuwantem indukowanej artrozy u szczurów. Porównano aktywność ekstraktu w dwóch dawkach 30 i 120 mg/kg podawanych w ciągu 30 dni po zastosowaniu adjuwanta (*Mycobacterium tuberculosis*). W modelu *in vitro* w hodowli chrząstki, proteoglikan i kolagen typu II pod wpływem IL-1β (cytokina prozapalna) ulegały degradacji. Po dodaniu do medium hodowlanego RRE w stężeniu 50 µg/ml obserwowano hamowanie procesu degradacji zarówno proteoglikanu, jak i kolagenu typu II. W modelu *in vivo* ujawniono, że ekstrakt podany *per os* w wyższych dawkach hamuje rozwój choroby mierzony stopniem obrzęku łapy szczura, bez spadku jego masy ciała charaktery-

stycznego dla tego modelu badawczego. Również w badaniach histologicznych nie wykazano znaczących zmian zapalnych (54% zahamowania stanu zapalnego), uszkodzeń chrząstki (67%) i resorpcji kości (67%), w porównaniu do grupy kontrolnej. W niższych dawkach ekstrakt pozostawał bez wpływu na rozwój choroby i obrzęk. Autorzy pracy uważają, że regularne spożywanie owoców maliny czerwonej może mieć korzystny wpływ na hamowanie progresji choroby reumatoidalnej (38).

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa

Dane piśmiennictwa wskazują na przeciwbakteryjne właściwości owoców jagodowych, wyróżniając owoce z rodzaju *Rubus*. Przede wszystkim dotyczy to owoców maliny morożki i maliny właściwej, jako wykazujących najsilniejszą aktywność przeciwdrobnoustrojową (8, 21, 39, 40). Brak jest natomiast badań nad owocami maliny czarnej. Aktywność przeciwbakteryjną oceniano dla wolnych od cukrów wyciągów z owoców oraz ich frakcji, zawierających elagotaniny i antocyjany, wobec bakterii (szczyepy wirulentne i niewirulentne), których źródłem zakażenia mogą być produkty żywnościowe, m.in. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*, gatunki z rodzaju *Listeria*. Spośród nich wysoką wrażliwością na składniki ekstraktu z owoców maliny charakteryzowały się *Staphylococcus aureus* oraz *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium*. W mechanizmie aktywności przeciwdrobnoustrojowej ekstraktów z malin wobec *Salmonella enterica* sv. *Typhimurium* wskazuje się na destabilizację zewnętrznej błony komórkowej. Wykazano także aktywność hamującą wzrost drobnoustrojów chorobotwórczych dla ludzi, takich jak *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella oxytoca* oraz bakteriobójczą wobec *Helicobacter pylori* ekstraktu z owoców maliny rosnącej w Norwegii (39, 41).

Rauha i wsp. (42) wykazali średnią aktywność przeciwbakteryjną względem *Bacillus subtilis* i *Streptococcus epidermidis* ekstraktów otrzymanych z owoców rodzaju *Rubus* (maliny morożki i maliny właściwej). Aktywność przeciwbakteryjną owoców z rodzaju *Rubus* wiąże się przede wszystkim z obecnością elagotanin (8, 21, 39, 40). Przypuszcza się, że hydroliza elagotanin do kwasu elagowego w warunkach *in vivo*, może przyczyniać się do silniejszej aktywności przeciwdrobnoustrojowej owoców malin (39).

Obserwowano, że antocyjany obecne w owocach *Rubus idaeus* w wysokich stężeniach hamują wzrost bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, które są bakteriami probiotycznymi stosowanymi przy produkcji

jogurtów (21), jednak w innych badaniach nie potwierdzono takiej aktywności dla ekstraktów z owoców maliny.

Do interesujących można zaliczyć wyniki badań Lin i wsp. (43), w których wykazano, że napoje alkoholowe wzbogacone ekstraktem z owoców maliny właściwej mają silniejsze działanie przeciwbakteryjne wobec *Helicobacter pylori* od czystego alkoholu. Autorzy wyjaśniają to zjawisko uszkodzeniem błon bakteryjnych przez składniki ekstraktu, co powoduje, że stają się one bardziej wrażliwe na alkohol.

Uwzględniając właściwości przeciwwirusowe opisane dla elagotanin, można również przypuszczać, że owoce maliny odznaczają się taką aktywnością, ale w tym zakresie nie ma danych piśmiennictwa oraz badań mikrobiologicznych.

Aktywność przeciwnowotworowa

W licznych doniesieniach piśmiennictwa (44) opisywane są przeciwnowotworowe właściwości owoców maliny właściwej i maliny czarnej.

W badaniu *in vitro* ekstrakt z owoców *R. idaeus*, odmiany Glen Ample, poddany działaniu czynników trawiennych, ograniczał populację komórek ludzkiego nowotworu okrężnicy w fazie G1 cyklu komórkowego oraz wykazywał ochronne działanie wobec oksydacyjnych uszkodzeń DNA indukowanych nadtlenkiem wodoru (45). W innym badaniu wykazano, że frakcja antocyjanów hamuje proliferację komórek nowotworowych linii HT-29, głównie poprzez wpływ na ekspresję genu kodującego białko p21 (WAF1) (46). Białko to ogranicza aktywność cyklinozależnych kinaz (*Cyclin Dependent Kinase* – CDK) warunkujących przejście z fazy G1 cyklu komórkowego do fazy S. Jednocześnie wywiera ono wpływ na białkowy antygen jądrowy proliferacji komórkowej PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*) blokując replikację DNA.

Komórki ludzkiego nowotworu okrężnicy HT-29 oraz komórki linii nowotworu prostaty LNCaP charakteryzowały się spadkiem żywotności w zakresie od 13 do 70% w obecności liofilizowanego ekstraktu z owoców *Rubus occidentalis* w stężeniach odpowiednio: 100 µg/ml oraz 1000 µg/ml (23).

Składniki polarnej frakcji ekstraktu metanolowego z owoców maliny czarnej hamowały w transfekowanych komórkach naskórkowych JB6 Cl 41, zarówno indukowaną kancerogenem anty-7,8-diol-9,10-epoksydem benzo(a)pirenu (BPDE) aktywność czynnika transkrypcyjnego NFκB (*Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), jak i białka AP-1 (*Activator Protein 1*), pełniących ważną rolę w promocji procesu nowotworzenia (47). Wykazano, że cyjanidyna i jej 3-O-glukozyd są skutecznymi inhibitorami aktywności NFκB indukowanej przez

BPDE (48). 3-O-Glukozyd cyjanidyny, 3-O-(2^G-ksylozylrutynozyd) cyjanidyny i 3-O-rutynozyd cyjanidyny obecne we frakcji ekstraktu etanolowo-wodnego, otrzymanego z liofilizowanych owoców maliny czarnej, uznano za antocyjany o najsilniejszym działaniu chemoprewencyjnym.

Doniesienia o aktywności chemoprewencyjnej antocyjanów wskazują na ich selektywny efekt w stosunku do komórek transformowanych nowotworowo, przy jedynie niewielkim wpływie lub braku wpływu na wzrost prawidłowych komórek okrężnicy NCM 460 (49, 50) oraz kierowanie komórek zmienionych nowotworowo na drogę apoptozy (36, 46). Antyproliferacyjny potencjał antocyjanów w odniesieniu do komórek nowotworowych jest uzależniony od ich struktury chemicznej. Antocyjanidyny wykazują silniejszą zdolność hamowania wzrostu komórek nowotworowych w porównaniu do ich form glikozydowych (51).

Inne badania sugerują, że za aktywność antyproliferacyjną owoców malin w większym stopniu odpowiadają elagotaniny niż antocyjany. W badaniach owoców 4 odmian maliny czarnej na linię komórek nowotworu wątroby HepG₂, nie stwierdzono istotnej korelacji między występowaniem i poziomem zawartości antocyjanów, a antyproliferacyjnym efektem owoców (52). Juranic i wsp. (53) wykazali hamujący wpływ na wzrost linii komórek nowotworu okrężnicy LS174 ekstraktu z owoców maliny właściwej, skorelowany z wysokim stężeniem wolnego kwasu elagowego (53). Ujawniono aktywność antyproliferacyjną frakcji elagotanin w stosunku do komórek raka szyjki macicy (HeLa). Efekt hamowania zależny był od stężenia frakcji, co wykazano obserwując spadek liczby komórek nowotworowych, jak i zmianę ich aktywności biologicznej i żywotności wraz ze wzrostem dawki elagotanin (44).

Sangwina H-6, elagotanina dominująca w zespole polifenoli owoców maliny, ogranicza wzrost komórek linii HeLa poprzez hamowanie topoizomerazy I i II (54).

Wykazano również, że inne składniki owoców maliny czarnej – kwas ferulowy i β-sitosterol, wraz z polarną frakcją ekstraktu z owoców maliny czarnej, hamują wzrost komórek nowotworowych, przy braku hamowania wzrostu zdrowych komórek nabłonka jamy ustnej. Natomiast frakcja zawierająca kwas elagowy hamowała wzrost komórek, zarówno normalnych, jak i nowotworowych, linii nowotworu jamy ustnej (55).

Pomimo niewyjaśnionego w pełni udziału poszczególnych związków fenolowych w aktywności chemoprewencyjnej owoców maliny, badania *in vivo* potwierdzają ich potencjał przeciwnowotworowy. Badania na zwierzętach wykazały chemoprewencyjne

właściwości owoców maliny czarnej w nowotworach przełyku (56), jelita grubego (57) i jamy ustnej (58). Harris i wsp. (57) w badaniach na szczurach z nowotworem jelita grubego indukowanym azoksymetanem, wykazali ochronne działanie liofilizatu z owoców maliny czarnej. Autorzy obserwowali spadek ogólnej liczby zmian nowotworowych okrężnicy (gruczolaków i gruczolakoraków) o 42, 45 i 71% przy zastosowaniu diety zawierającej odpowiednio 2,5, 5 i 10% liofilizowanych owoców. Ponadto, u szczurów z indukowanym procesem kancerogenezy, podawanie liofilizowanych owoców maliny czarnej obniżało poziom 8-hydroksy-2'-dezoksyguanozyny (8-OHdG) w moczu, co potwierdzało silny potencjał przeciwutleniający owoców i ich efekt ograniczający oksydacyjne uszkodzenia DNA.

W modelu indukowanego N-nitrozometylobenzylaminą nowotworu przełyku u szczurów, liofilizowane owoce maliny czarnej, podawane szczurom w diecie na poziomie 5 lub 10%, znacząco hamowały indukcję nowotworu, jak również jego rozwój na poszczególnych etapach (59).

Promieniowanie UVB wywołuje zmiany w naskórku myszy i ludzi, powodując silną odpowiedź zapalną. Podawanie standaryzowanego ekstraktu z owoców maliny czarnej skutecznie blokuje szlaki sygnalizacyjne inicjowane przez bodźce zapalne. W modelu kancerogenezy, bezwłose myszy płci żeńskiej naświetlano 3 razy w tygodniu minimalną dawką promieniowania UVB. Bezpośrednio po ekspozycji myszom podawano doustnie ekstrakt z owoców, co skutkowało ograniczeniem liczby guzów i zmniejszeniem ich średniej wielkości (60).

Wang i wsp. (61) przedstawili wyniki terapii sproszkowanymi owocami maliny czarnej podawanymi pacjentom w dawce 60 g/dzień (3 x 20 g) przez 2-4 tygodnie. Badania obejmowały 25 pacjentów ze stwierdzonym nowotworem jelita grubego i polipami (stanami przednowotworowymi). Badania tkanek nowotworowych i prawidłowych, pobranych od 23 pacjentów przed i po terapii wykazały, że wskutek diety wzbogaconej w antocyjany z maliny czarnej, obserwowano hamowanie szybkości proliferacji komórek nowotworowych i ich nasiloną apoptozę, bez wpływu na wzrost komórek prawidłowych (61).

Inne kierunki aktywności

Frakcja zawierająca elagotaniny – sangwinę H-6 oraz lambertianinę C, wywiera efekt wazorelaksacyjny i wykazuje właściwości hipotensyjne (62). Obecny w owocach, głównie w formie związanej (elagotaniminy), kwas elagowy wykazuje działanie obniżające ciśnienie krwi, m.in. poprzez efekt sedatywny, a także hamuje biosyntezę trombosanu B2, zapobiegając w ten sposób chorobom serca i układu krążenia.

Wykazano, że antocyjany z owoców maliny wzmagają wydzielanie insuliny, jak również hamują R-amylazę, a więc mogą w znacznym stopniu ograniczać procesy występujące w przebiegu cukrzycy (9).

Ponieważ we wcześniejszych badaniach frakcja elagotanin (ETs) z owoców *Rosaceae* ujawniła w warunkach *in vitro* aktywność przeciwzapalną i hamującą wzrost *Helicobacter pylori* – bakterii powodującej chorobę wrzodową żołądka, w kolejnej pracy oceniano efekty biologiczne wzbogaconego w elagotaniminy ekstraktu z owoców *Rubus idaeus* w zapaleniu błony śluzowej żołądka. Badania prowadzono na linii komórek żołądka AGS stymulowanej prozapalnymi cytokinami TNF- α i IL-1 β , w celu oceny poziomu uwalniania markerów zapalnych, m.in. IL-8. *In vivo* ochronny efekt elagotanin obserwowany był w modelu indukowanego etanolem uszkodzenia błony śluzowej u szczurów. Zwierzęta otrzymywały w ciągu 10 dni wzbogacony w elagotaniminy ekstrakt w dawce 20 mg/kg/dzień, natomiast etanol podawany był na 1 godz. przed uśpieniem zwierząt i pobraniem materiału do badań. W błonie śluzowej żołądka oznaczono m.in. poziomy IL-8, aktywność dysmutazy nadtlenkowej i katalazy – enzymów o aktywności antyoksydacyjnej. Stwierdzono, że sangwina H-6 i lambertianina C – związki dominujące w zespole elagotanin z owoców, są częściowo odpowiedzialne za efekty biologiczne ekstraktów. Ekstrakt wzbogacony ETs obniżał wartość indeksu wrzodowego o około 75% i chronił przed stresem oksydacyjnym indukowanym u szczurów etanolem. W modelu *in vitro* ekstrakt ten hamował poziom czynnika NF- κ B indukowanego TNF- α – odpowiedzialnego za ekspresję genów szeregu mediatorów prozapalnych. Po raz pierwszy wskazano na ochronne efekty ETs w zapaleniu błony śluzowej żołądka i możliwość zastosowania ekstraktu z owoców *R. idaeus* w chorobie wrzodowej żołądka (63).

Keton malinowy we wspomaganiu leczenia otyłości

Jednym z najnowszych doniesień dotyczących owoców maliny właściwej jest informacja o pozytywnym wpływie ketonu malinowego w kuracjach odchudzających i leczeniu otyłości. Keton malinowy (4-(4-hydroksyfenilo)-butan-2-on), jest jednym z głównych związków aromatycznych w owocach malin. Jest on wykorzystywany w aromatach spożywczych i przemyśle perfumeryjnym (64, 65).

Badania przeprowadzone na szczurach z dietą wysokotłuszczową sugerują, że dodatek ketonu malinowego w stężeniu 1%, jako składnika codziennego pożywienia, hamuje wzrost masy podskórnej tkanki tłuszczowej. Ponadto keton obniża, spowodowany

dieta wysokotłuszczową, wysoki poziom triacylogliceroli wątrobowych (64). Ze względu na strukturalne podobieństwo ketonu malinowego do dwóch innych substancji wspomagających odchudzanie – kapsaicyny i synefryny, przypuszcza się, że wykazuje on ten sam mechanizm działania. Badania przeprowadzone *in vitro* na linii adipocytarnej 3T3-L1 wskazują na kilka możliwych kierunków aktywności ketonu malinowego, takich jak pobudzanie lipolizy, procesu β -oksydacji kwasów tłuszczowych oraz wydzielania adiponektyny (65).

W świetle powyższych danych owoce maliny właściwej i maliny zachodniej wydają się surowcami o dużym, nie w pełni wykorzystywanym potencjale leczniczym.

Piśmiennictwo

- Patel AV, Rojas-Vera J, Dacke CG. Therapeutic constituents and actions of *Rubus* species. *Curr Med Chem* 2004; 11(11):1501-12.
- Danek J. Uprawa maliny i jeżyny. Hortpress, Warszawa 2009.
- Karabela M. Malina. *Panacea* 2007; 3:30-1.
- Strzelecka H, Kamińska J, Kowalski J i wsp. Chemiczne metody badań roślinnych surowców leczniczych. Podręcznik dla studentów farmacji. PZWL, Warszawa 1982.
- Landete JM. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. *Food Res Int* 2011; 44(5):1150-60.
- Lee J, Dossett M, Finn CE. *Rubus* fruit phenolic research: The good, the bad, and the confusing. *Food Chem* 2012; 130(4):785-96.
- Wada L, Ou B. Antioxidant activity and phenolic content of *Oregon caneberrries*. *J Agric Food Chem* 2002; 50(12):3495-500.
- Quideau S. Chemistry and biology of ellagitannins: An underestimated class of bioactive plant polyphenols. World Scientific Publishing Company, Singapore 2009.
- Rao AV, Snyder DM. Raspberries and human health: A review. *J Agric Food Chem* 2010; 58(7):3871-83.
- Kähkönen M, Kylli P, Ollilainen V i wsp. Antioxidant activity of isolated ellagitannins from red raspberries and cloudberries. *J Agric Food Chem* 2012; 60(5):1167-74.
- Gasparotti M, Masuero D, Vrhovsek U i wsp. Profiling and accurate quantification of *Rubus* ellagitannins and ellagic acid conjugates using direct UPLC-Q-tof HDMS and HPLC-DAD analysis. *J Agric Food Chem* 2010; 58(8):4602-16.
- Bushman BS, Phillips B, Isbell T i wsp. Chemical composition of cranberry (*Rubus* spp.) seeds and oils and their antioxidant potential. *J Agric Food Chem* 2004; 52(26):7982-7.
- Horuz A, Korkmaz A, Rüstü-Karaman M i wsp. The evaluation of leaf nutrient contents and element ratios of different raspberry varieties. *J Food Agric Environ* 2013; 11(1):588-93.
- McCarty MF. Proposal for a dietary "phytochemical index". *Med Hypothes* 2004; 63(5):813-7.
- Godevac D, Tešević V, Vajs V i wsp. Antioxidant properties of raspberry seed extracts on micronucleus distribution in peripheral blood lymphocytes. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(11):2853-9.
- Jakobek L, Šeruga M, Šeruga B i wsp. Phenolic compound composition and antioxidant activity of fruits of *Rubus* and *Prunus* species from Croatia. *Int J Food Sci Tech* 2009; 44(4):860-8.
- Kähkönen MP, Heinonen M. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *J Agric Food Chem* 2003; 51(3):628-33.
- Kähkönen MP, Heinämäki J, Ollilainen V i wsp. Berry anthocyanins: Isolation, identification and antioxidant activities. *J Sci Food Agric* 2003; 83(14):1403-11.
- Liu M, Li XQ, Weber C i wsp. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *J Agric Food Chem* 2002; 50(10):2926-30.
- Mullen W, Stewart AJ, Lean MEJ i wsp. Effect of freezing and storage on the phenolics, ellagitannins, flavonoids, and antioxidant capacity of red raspberries. *J Agric Food Chem* 2002; 50(18):5197-201.
- Vuorela S, Kreander K, Karonen M i wsp. Preclinical evaluation of rapeseed, raspberry, and pine bark phenolics for health related effects. *J Agric Food Chem* 2005; 53(15):5922-31.
- Hager TJ, Howard LR, Liyanage R i wsp. Ellagitannin composition of blackberry as determined by HPLC-ESI-MS and MALDI-TOF-MS. *J Agric Food Chem* 2008; 56(3):661-9.
- Jeong JH, Jung H, Lee SR i wsp. Anti-oxidant, anti-proliferative and anti-inflammatory activities of the extracts from black raspberry fruits and wine. *Food Chem* 2010; 123(2):338-44.
- Jung J, Son MY, Jung S i wsp. Antioxidant properties of Korean black raspberry wines and their apoptotic effects on cancer cells. *J Sci Food Agric* 2009; 89(6):970-7.
- Tian Q, Giusti MM, Stoner GD i wsp. Urinary excretion of black raspberry (*Rubus occidentalis*) anthocyanins and their metabolites. *J Agric Food Chem* 2006; 54(4):1467-72.
- Halvorsen BL, Holte K, Myhrstad MCW i wsp. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J Nutr* 2002; 132(3):461-71.
- Beekwilder J, Hall RD, De Vos CHR. Identification and dietary relevance of antioxidants from raspberry. *Bio-Factors* 2005; 23(4):197-205.
- Kalt W, Forney CF, Martin A i wsp. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J Agric Food Chem* 1999; 47(11):4638-44.
- González EM, De Ancos B, Cano MP. Relation between bioactive compounds and free radical-scavenging capacity in berry fruits during frozen storage. *J Sci Food Agric* 2003; 83(7):722-6.
- Beekwilder J, Jonker H, Meesters P i wsp. Antioxidants in raspberry: On-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites. *J Agric Food Chem* 2005; 53(9):3313-20.
- Pantelidis GE, Vasilakakis M, Manganaris GA i wsp. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chem* 2007; 102(3):777-83.
- Seeram NP, Adams LS, Zhang Y i wsp. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells *in vitro*. *J Agric Food Chem* 2006; 54(25):9329-39.
- Anttonen MJ, Karjalainen RO. Environmental and genetic variation of phenolic compounds in red raspberry. *J Food Comp Anal* 2005; 18(8):759-69.
- Wang J, Mazza G. Inhibitory effects of anthocyanins and other phenolic compounds on nitric oxide production in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem* 2002; 50(4):850-7.
- Wang J, Mazza G. Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor α in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem* 2002; 50(15):4183-9.
- Seeram NP, Momin RA, Nair MG i wsp. Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides in cherries and berries. *Phytomed* 2001; 8(5):362-9.
- Wang H, Nair MG, Strasburg GM i wsp. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *J Nat Prod* 1999; 62(2):294-6.
- Jean-Gilles D, Li L, Ma H i wsp. Anti-inflammatory effects of polyphenolic-enriched red raspberry extract in an antigen-induced arthritis rat model. *J Agric Food Chem* 2012; 60(23):5755-62.
- Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Meier C i wsp. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *J Appl Microbiol* 2001; 90(4):494-507.
- Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Hartmann-Schmidlin S i wsp. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *J Appl Microbiol* 2005; 98(4):991-1000.
- Nohynek LJ, Alakomi HL, Kähkönen MP i wsp. Berry phenolics: Antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutr Cancer* 2006; 54(1):18-32.
- Rauha JP, Remes S, Heinonen M i wsp. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *Int J Food Microbiol* 2000; 56(1):3-12.
- Lin YT, Vatterm D, Labbe RG

- i wsp. Enhancement of antioxidant activity and inhibition of *Helicobacter pylori* by phenolic phytochemical-enriched alcoholic beverages. *Proc Biochem* 2005; 40(6):2059-65. **44.** Ross HA, McDougall GJ, Stewart D. Antiproliferative activity is predominantly associated with ellagitannins in raspberry extracts. *Phytochem* 2007; 68(2):218-28. **45.** Coates EM, Popa G, Gill CIR i wsp. Colon-available raspberry polyphenols exhibit anti-cancer effects on *in vitro* models of colon cancer. *J Carcinogen* 2007; 6. **46.** Wu QK, Koponen JM, Mykkänen HM i wsp. Berry phenolic extracts modulate the expression of p21WAF1 and Bax but Not Bcl-2 in HT-29 colon cancer cells. *J Agric Food Chem* 2007; 55(4):1156-63. **47.** Huang C, Huang Y, Li J i wsp. Inhibition of benzo(a)pyrene diol-epoxide-induced transactivation of activated protein 1 and nuclear factor κB by black raspberry extracts. *Cancer Res* 2002; 62(23):6857-63. **48.** Hecht SS, Huang C, Stoner GD i wsp. Identification of cyanidin glycosides as constituents of freeze-dried black raspberries which inhibit anti-benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide induced NFκB and AP-1 activity. *Carcinogen* 2006; 27(8):1617-26. **49.** Galvano F, La Fauci L, Lazzarino G i wsp. Cyanidins: Metabolism and biological properties. *J Nutr Biochem* 2004; 15(1):2-11. **50.** Zikri NN, Riedl KM, Wang LS i wsp. Black raspberry components inhibit proliferation, induce apoptosis, and modulate gene expression in rat esophageal epithelial cells. *Nutr Cancer* 2009; 61(6):816-26. **51.** Cooke D, Steward WP, Gescher AJ i wsp. Anthocyanins from fruits and vegetables – Does bright colour signal cancer chemopreventive activity? *Eur J Cancer* 2005; 41(13):1931-40. **52.** Liu Z, Schwimer J, Liu D i wsp. Black raspberry extract and fractions contain angiogenesis inhibitors. *J Agric Food Chem* 2005; 53(10):3909-15. **53.** Juranic Z, Zizak Z, Tasic S i wsp. Antiproliferative action of water extracts of seeds or pulp of five different raspberry cultivars. *Food Chem* 2005; 93(1):39-45. **54.** Bastow KF, Bori ID, Fukushima Y i wsp. Inhibition of DNA topoisomerases by sanguin H-6, a cytotoxic dimeric ellagitannin from *Sanguisorba officinalis*. *Planta Med* 1993; 59(3):240-5. **55.** Han C, Ding H, Casto B i wsp. Inhibition of the growth of premalignant and malignant human oral cell lines by extracts and components of black raspberries. *Nutr Cancer* 2005; 1(2):207-17. **56.** Chen T, Rose ME, Hwang H i wsp. Black raspberries inhibit N-nitrosomethylbenzylamine (NMBA)-induced angiogenesis in rat esophagus parallel to the suppression of COX-2 and iNOS. *Carcinogen* 2006; 27(11):2301-7. **57.** Harris GK, Gupta A, Nines RG i wsp. Effects of lyophilized black raspberries on azoxymethane-induced colon cancer and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in the fischer 344 rat. *Nutr Cancer* 2001; 40(2):125-33. **58.** Casto BC, Kresty LA, Kraly CL i wsp. Chemoprevention of oral cancer by black raspberries. *Anticancer Res* 2002; 22(6 C):4005-15. **59.** Kresty LA, Morse MA, Morgan C i wsp. Chemoprevention of esophageal tumorigenesis by dietary administration of lyophilized black raspberries. *Cancer Res* 2001; 61(16):6112-9. **60.** Duncan FJ, Martin JR, Wulff BC i wsp. Topical treatment with black raspberry extract reduces cutaneous UVB-induced carcinogenesis and inflammation. *Cancer Prev Res* 2009; 2(7):665-72. **61.** Wang LS, Stoner GD. Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Lett* 2008; 269(2):281-90. **62.** Mullen W, McGinn J, Lean MEJ i wsp. Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *J Agric Food Chem* 2002; 50(18):5191-6. **63.** Sangiovanni E, Vrhovsek U, Rossoni G i wsp. Ellagitannins from *Rubus* berries for the control of gastric inflammation: *In vitro* and *In vivo* studies. *PLoS ONE* 2013; 8(8). **64.** Morimoto C, Satoh Y, Hara M i wsp. Anti-obese action of raspberry ketone. *Life Sci* 2005; 77(2):194-204. **65.** Park KS. Raspberry ketone increases both lipolysis and fatty acid oxidation in 3T3-L1 adipocytes. *Planta Med* 2010; 76(15):1654-8.

otrzymano/received: 03.01.2014
zaakceptowano/accepted: 14.01.2014

Adres/address:

*dr hab. Mirosława Krauze-Baranowska, prof. nadzw.
Katedra i Zakład Farmakognozji z Ogrodem Roślin Leczniczych
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Gdański Uniwersytet Medyczny
al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk
tel./fax: +48 (58) 349-19-60
e-mail: krauze@gumed.edu.pl