

©Borgis

Katarzyna Karłowicz-Bodalska<sup>1</sup>, Stanisław Han<sup>1</sup>, Tomasz Han<sup>2</sup>, Kornelia Koppa<sup>3</sup>,  
Ilona Krzak<sup>3</sup>, Marzena Ruszkiewicz<sup>4</sup>, \*Adam Kowalczyk<sup>4</sup>

## Wybrane rośliny lecznicze stosowane w menopauzie

<sup>1</sup>Zakład Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
Kierownik Zakładu: dr Stanisław Han

<sup>2</sup>Przedsiębiorstwo Produkcji Farmaceutycznej Hasco-Lek S.A.

<sup>3</sup>Studenckie Koło Naukowe, Zakład Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny,  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Opiekun Koła: mgr farm. Katarzyna Karłowicz-Bodalska

<sup>4</sup>Katedra i Zakład Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
Kierownik Zakładu: dr hab. Izabela Fecka

### SOME SELECTED MEDICINAL PLANTS FOR MENOPAUSAL SYMPTOMS

#### SUMMARY

*In the literature of the recent years much attention has been paid to the therapy of the estrogen deficiency-related menopausal complaints, among them cardiovascular disease, emotional instability, depression, sleep disturbances and osteoporosis are the most difficult ones. Hormone/estrogen replacement therapy (HRT/ERT) is the most common method used by women to alleviate the menopausal symptoms. Recently some studies have been shown, that longterm treatment with HRT can cause the increased occurrence of the negative side effects such as breast cancer, heart diseases or strokes. This is the reason of actually great interest to the complementary and alternative medicine and to herbal non-steroid compounds with the similar activity to estrogens in order to replace them in the diet preparations, administered in menopause. Worth of mentioning is also common known chemopreventive activity of many herbal substances. This review describes investigation results of 11 plants: *Rheum raponticum* L. (Polygonaceae), *Cyclopia genistoides*, *C. subternata* Vogel (Fabaceae), *Glycyrrhiza glabra*, *G. inflata*, *G. uralensis* (Leguminosae), *Humulus lupulus* L. (Cannabaceae), *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae), *Agrimonia pilosa* Ledeb. (Rosaceae), *Labisia pumila* var. *alata* (Myriaceae), *Crotalaria pallida* Ailton (Fabaceae) in aspect of their estrogen properties, which (according to the opinion of their authors) could be helpful as prospective natural substances, effective in menopausal disorders.*

KEYWORDS: HRT/ERT – HORMONE /ESTROGEN/  
REPLACEMENT THERAPY – MEDICINAL PLANTS

### Wstęp

Menopauza jest okresem powolnego zmniejszania się zdolności rozrodczych kobiety, który spowodowany

jest postępującym zanikaniem syntezy estrogenów. Następstwem tego jest stopniowe zmniejszenie aktywności jajników, co prowadzi początkowo do nieregularnego, później całkowitego ustania miesiączkowania. Objawami menopauzy są uderzenia krwi do głowy, uzewnętrzniające się nagłym zaczerwienieniem twarzy, nocne poty, problemy z zasypianiem, osteoporoza oraz inne choroby, obserwowane u kobiet w tym okresie.

W opracowaniu przeglądowym Gryszyńskiej i wsp. (1) zostały przedstawione badania wpływu medycyny alternatywnej na stan pacjentek menopauzalnych lub postmenopauzalnych, leczonych hormonalną terapią zastępczą (ang. *hormone replacement therapy* – HRT), którą stanowią estrogen i/lub progesteron. Na podstawie wieloletnich badań zaobserwowano, że oba hormony działają korzystnie nie tylko w łagodzeniu objawów menopauzy. Stosowanie terapii HRT zapobiega także utracie gęstości kości, zmniejszając ryzyko występowania osteoporozy o ok. 50%, oraz śmiertelności z powodu chorób serca i układu krążenia o ok. 35%. To korzystne działanie terapii HRT występuje jednak tylko wówczas, gdy trwa ona stosunkowo krótko. Po dłuższym stosowaniu HRT (trwającym ok. 5 lat) następuje odwrócenie działania – obserwuje się zwiększenie ryzyka wystąpienia licznych chorób, łącznie z chorobą niedokrwinną serca, nowotworową dróg rodnych, raka piersi i wątroby, może również wystąpić udar mózgu, zwłaszcza u starszych kobiet (2-7). We wspomnianym wyżej opracowaniu opisano również wyczerpująco działanie i skład chemiczny najczęściej wykorzystywanych roślin leczniczych bądź otrzymany

wanych z nich produktów naturalnych w menopauzie, a także w leczeniu niektórych chorób pojawiających się w tym okresie.

Wśród roślin korzystnie działających w menopauzie wymienić należy przede wszystkim gatunki zawierające substancje o strukturze niesteroidowej, lecz o działaniu zbliżonym do naturalnych i syntetycznych estrogenów, tzw. fitoestrogeny, które stanowią naturalną grupę substancji egzogennych (ksenoestrogenów). Liczne badania potwierdziły działanie fitoestrogenne m.in. w klasie polifenoli, takich substancji, jak powszechnie występujące w roślinach związki flawonoidowe (grupa pochodnych fenylochromonu, do których należą flawony, flawonole, flawanony, chalkony, izoflawonoidy) (ryc. 1) oraz wśród lignanów i stilbenów. Znaczącą aktywność fitoestrogenną odnotowano zwłaszcza w podgrupie izoflawonów (pochodnych 3-fenylochromonu). Związki te znajdują się głównie w gatunkach rodziny strączkowych (*Fabaceae*).

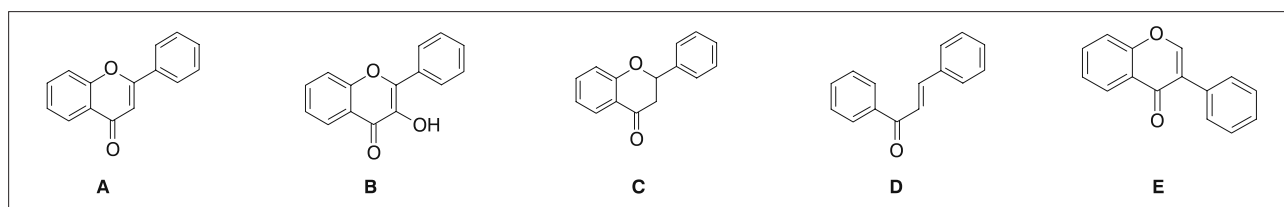
Biorąc powyższe pod uwagę, Boué i wsp. (8) przeprowadzili badanie aktywności estrogennej wyciągów metanolowych z 6 roślin pochodzących z tej rodziny: *Glycine max* L. – soja, *Phaseolus vulgaris* L. – fasola zielona, *Medicago sativa* L. – lucerna polna, *Vigna radiata* L. – fasola mung, *Pueraria lobata* L. – kudzu i *Trifolium pratense* L. – koniczyna łąkowa. Wśród aktywnych izoflawonów autorzy zidentyfikowali w badanych surowcach daidzeinę, daidzynę, genisteinę, genistynę, puerarynę, formononetynę, kumestrol i biochaninę A (ryc. 2).

Związki te wykazują zdolność wiązania wewnątrzkomórkowych receptorów estrogenowych (RE), odpowiedzialnych za wzrost, różnicowanie i funkcję wielu komórek. Według aktualnych danych, recep-

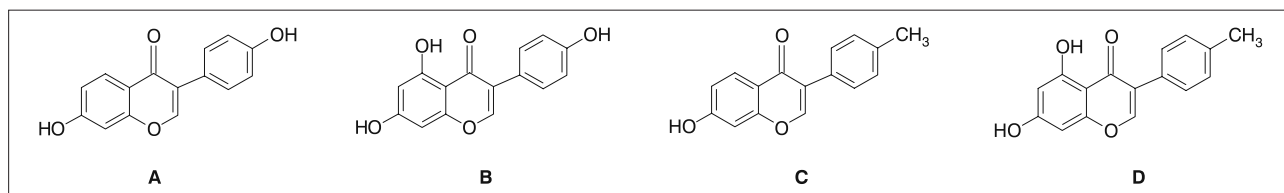
tory estrogenowe występują w postaci dwóch głównych izoform (RE- $\alpha$  i RE- $\beta$ ), kodowanych przez dwa różne geny. Obie izoformy wykazują analogiczną budowę chemiczną; różnią się jedynie sekwencją aminokwasów, rozmieszczeniem w tkankach i narządach, powinowactwem z ligandami oraz pełnią funkcją w organizmie (1-2, 9). Podobne, chociaż znacznie słabsze działanie wykazują również pochodne 2-fenylochromonu, np. flawony i flawonole (glukozyd i glukuronid apigeniny, glukuronid luteoliny, kemferol i kwercetyna, niektóre pochodne hydroksylowe chalkonu), a także kumestany, lignany i inne (10-12).

Aktywność terapeutyczna izoflawonów w porównaniu z HRT jest jednak znacznie słabsza i wymaga dłuższego stosowania roślinnych produktów estrogennych w celu uzyskania nie zawsze w pełni oczekiwanego efektu leczniczego. Mimo tych niedogodności medycyny alternatywnej obserwuje się aktualnie duże zainteresowanie roślinami bądź produktami roślinnymi zawierającymi fitoestrogeny. Ważnym powodem, skłaniającym do coraz szerszego stosowania tych naturalnych źródeł estrogenów jako suplementów diety, zwłaszcza w okresie postmenopauzalnym, jest ich korzystny wpływ na masę i uwapnienie kości w osteoporozie, zmniejszenie ryzyka rozwoju hormonozależnych nowotworów raka piersi, raka prostaty, miażdżycy tętnic, choroby niedokrwiennej serca, demencji, objawów depresji oraz, co ma istotne znaczenie, przeważnie brak niepożądanych efektów ubocznych (2, 13-15).

Moreira i wsp. (16) podkreślają, że lepsze zrozumienie objawów patofizjologii związanych z okresem menopauzy oraz postępujący rozwój nowych strategii polepszających leczenie tych objawów są ważnym wyzwaniem dla klinicystów. Autorzy opisują fizjolo-



Ryc. 1. Struktury wybranych związków flawonoidowych o działaniu fitoestrogennym: A. flawon, B. flawonol, C. flawanon, D. chalkon, E. izoflawon.



Ryc. 2. Struktury wybranych izoflawonów o działaniu estrogennym: A. daidzeina, B. genisteina, C. formononetyna, D. biochanina.

giczne i hormonalne zmiany obserwowane w okresie menopauzy. Krytycznie oceniają rezultaty leczenia tradycyjną HRT, rozważając możliwość zastosowania fitoestrogenów jako alternatywnej metody w kontekście minimalizowania objawów menopauzy.

Ponieważ zagadnienie stosowania w menopauzie roślin wykazujących działanie estrogenne budzi powszechne zainteresowanie wielu ośrodków naukowych, celem niniejszego doniesienia jest prześledzenie dalszych opracowań związanych z badaniami fitoestrogenów w aspekcie łagodzenia objawów menopauzy oraz podsumowanie uzyskanych wyników.

### *Rheum raponticum* L.

Vollmer i wsp. (17) prześledzili dane piśmiennictwa dotyczące badań *in vitro* i *in vivo* aktywności estrogennej narządów podziemnych rzewienia ogrodowego *Rheum raponticum* L., rodz. *Polygonaceae*. Surowcowi temu przypisuje się właściwość łagodzenia poważnych symptomów klimakteryjnych, wraz z polepszeniem stanu zdrowia i samopoczucia u kobiet w okresie okołomenopauzalnym. Autorzy opisali efektywność stosowania ekstraktu z kłączy rzewienia ogrodowego (ERr) w łagodzeniu symptomów menopauzy po przeprowadzeniu randomizowanych, kontrolowanych placebo badań na 54 pacjentkach z dolegliwościami klimakteryjnymi, którym podawano preparat w ilości 4 mg/dziennie przez 3 miesiące. Poza znacznym ustąpieniem objawów menopauzy w porównaniu z kontrolą (wg Menopause Rating Scale II), u badanych pacjentek potwierdzono działanie sedatywne wg skali Hamiltona (Hamilton Anxiety Scale). Nie stwierdzono przy tym niekorzystnych zmian w badaniach ginekologicznych, testowanych parametrach laboratoryjnych ani w badaniu śluzówki macicy (17). Podawanie pacjentkom preparatu ERr nawet przez okres 48-96 tygodni nie skutkowało przerostem endometrium ani innymi szkodliwymi efektami ubocznymi (18, 19).

Związkami biologicznie czynnymi rzewienia ogrodowego są pochodne stilbenu, głównie rapontycyna (ok. 90%) i dezoksyrapontycyna, oraz ich aglikony: rapontygenina i deoksyrapontygeni-

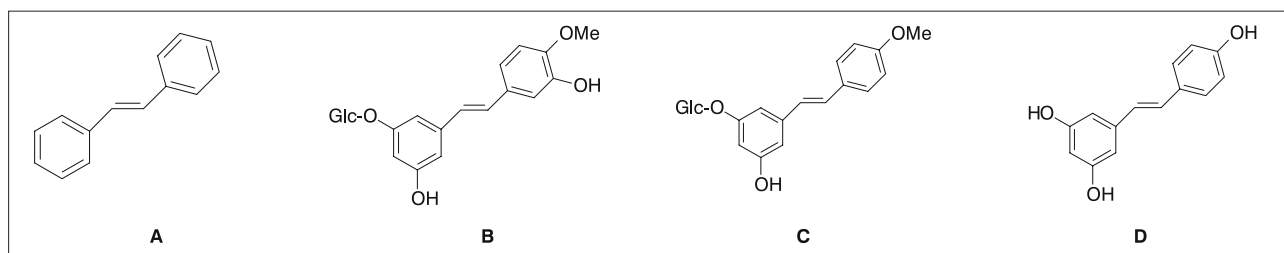
na (ryc. 3). Pozostałe hydroksystilbeny są pochodnymi resweratrolu.

Ekstrakt metanolowy z kłączy rzewienia ogrodowego (ERr) jest w handlu dostępny i bezpieczny, pozbawiony niepożądanych efektów ubocznych, mimo że syntetyczny dietylostilbestrol, o podobnej strukturze do hydroksystilbenów, wykazuje szkodliwe działanie przezłożyskowe u kobiet (20). Stwierdzono ponadto, że ERr (lub jego komponenty) wykazuje właściwość selektywnego modulatora receptora estrogenowego (SERM) (21). Znane SERM (jak Raloxifen czy Tamoxifen) obniżają ryzyko raka piersi i podwyższają gęstość kości. Natomiast zagadnienie, czy i w jaki sposób receptor estrogenowy ER lub jego podtypy (izoformy) wpływają na mechanizm wiązania tych związków, nadal nie zostało wyjaśnione. Funkcja receptora ER $\beta$ , który wydaje się odgrywać ważną rolę w mechanizmie działania wyciągu, sprowadza się jak dotąd do pośredniczenia w uzyskiwaniu efektu uspokajającego. Konkludując, autorzy uważają, że dotychczasowe badania potwierdzają korzystne działanie hydroksystilbenów rzewienia w łagodzeniu objawów menopauzalnych.

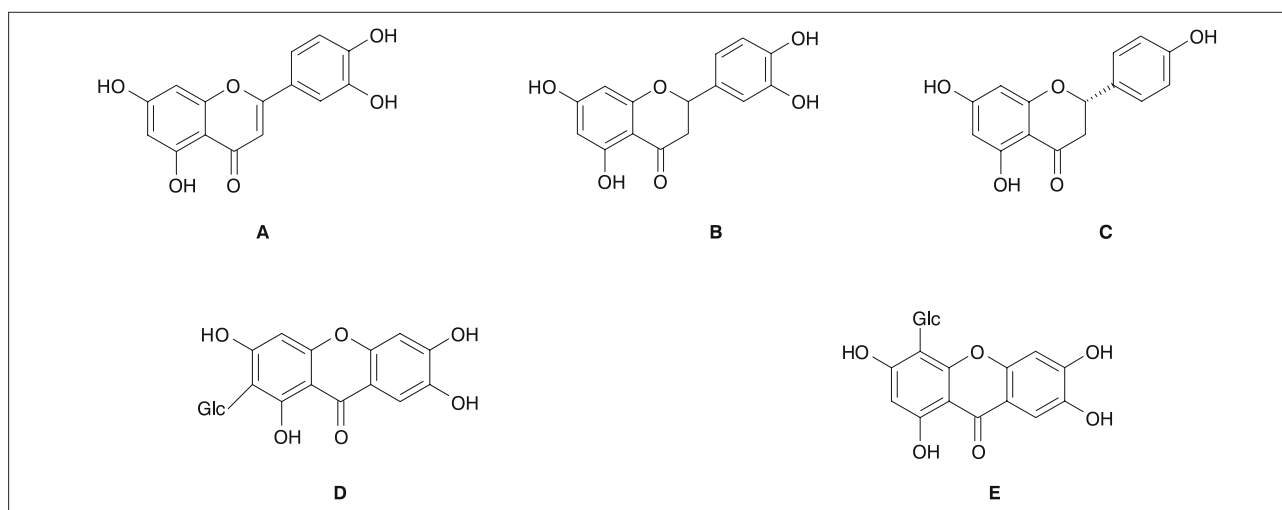
### *Cyclopia* spp.

Visser i wsp. (22) badali właściwości estrogenne ekstraktów otrzymanych z dwóch gatunków rodzaju *Cyclopia* (*C. genistoides* i *C. subternata*), rodz. *Fabaceae*, roślin pochodzących z Południowej Afryki, używanych do sporządzania aromatycznego napoju (honeybush), który wykazuje wielokierunkowe działanie lecznicze. Skład chemiczny cyklopii stanowią głównie flawonoidy o różnej aktywności estrogennej: luteolina, eriodykcjoł, naryngenina i formononetyna, oraz dwa izomeryczne C-glukozydy pochodne ksantonu: mangiferyna i izomangiferyna (ryc. 4) (23, 24).

W przeprowadzonych badaniach Verhoog i wsp. (23) oceniali aktywność kilku ekstraktów z cyklopii i wykazali, że wszystkie badane wyciągi są antagonistami ER $\alpha$ , podczas gdy dwa z nich wykazują równocześnie agonizm wobec ER $\beta$  oraz że ekstrakt z *C. genistoides* ulega transaktywacji jedynie przez ER $\beta$ , chociaż jest



Ryc. 3. Struktury związków czynnych rzewienia ogrodowego: A. stilben, B. rapontycyna, C. dezoksyrapontycyna, D. resweratrol.



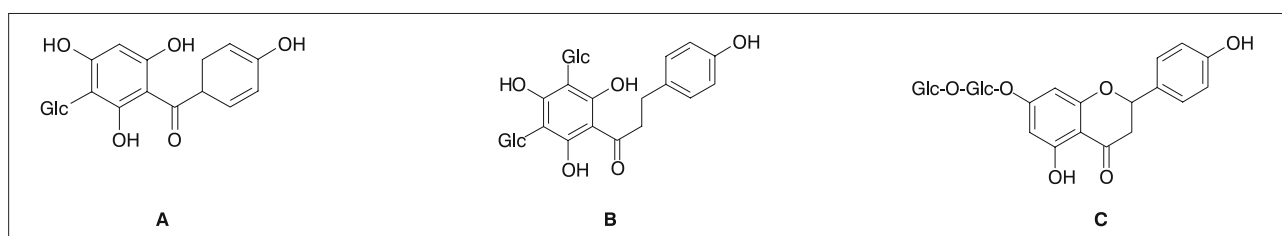
Ryc. 4. Struktury wybranych związków aktywnych *Cyclopia* spp. o właściwościach estrogennych: A. luteolina, B. eriodyckjol, C. naryngenina, D. mangiferyna, E. izomangiferyna.

wiązany przez obie izoformy. W rezultacie uzyskane wyniki sugerują, że ekstrakty z cyklopii, wykazujące powyższe własności, mogą stanowić naturalne, bezpieczne źródło tego surowca do leczenia osteoporozy lub zapobiegania osteoporozie i innym symptomom premenopauzy. Obecne w cyklopii zespoły polifenoli mogą również zawierać dotąd niezidentyfikowane związki o analogicznej aktywności, z polepszonym profilem ryzyka oraz dodatkowo z właściwościami chemochronnymi.

Kierując się celowością poznawania pełniejszego składu aktywnych komponentów cyklopii, Kokotkiewicz i wsp. (25) przeprowadzili szczegółową analizę chemiczną oraz badanie właściwości biologicznych ekstraktu i wydzielonych substancji, zarówno z surowca naturalnego *Cyclopia subternata*, jak i z hodowli tkankowych tej rośliny *in vitro*. Z metanolowych ekstraktów z nadziemnych części rośliny oraz z biomasy otrzymanej z kalusa *C. subternata* autorzy otrzymali mieszaninę polifenoli, z której wydzielili (po zastosowaniu zmodyfikowanej przez zespół chromatografii semipreparatywnej HPLC) i zidentyfikowali trzy nowe związki: 3-C- $\beta$ -glukozyd iriflofenonu (pochodna ben-

zofenonu), 3',5'-di-C- $\beta$ -glukozyd floretyny (pochodna dihydrochalkonu) oraz izoroifolinę (glukozyd apigeniny) (ryc. 5). Obecność obu C-glikozydów w *C. subternata* stanowi jak dotąd jedyny dowód na występowanie pochodnych benzofenonu i dihydrochalkonu w rodzaju *Cyclopia*.

W badanym materiale zidentyfikowano ponadto trzy dotąd nieopisane w rodzaju *Cyclopia* 7-O- $\beta$ -glukozydy izoflawonów: kalikozyny, pseudobaptygeniny i formononetyny. W sumie, w pracy zamieszczono opis badań dziesięciu związków wydzielonych i zidentyfikowanych przy pomocy najnowszych technik analitycznych. Autorzy sugerują konieczność prowadzenia dalszych badań ekstraktów otrzymanych z *Cyclopia* spp. w celu bliższego poznania mechanizmu ich działania oraz identyfikacji pozostałych polifenoli, których mieszanina aktywuje w większym stopniu obserwowany ER $\alpha$  agonizm i ER $\beta$  antagonizm, niż wyizolowane do tej pory związki o tych właściwościach. Mfenyana i wsp. (26) udowodnili bowiem, że dotychczas wydzielone z ziela *C. subternata* poszczególne polifenole nie wykazywały znaczącej aktywności fitoestrogennej w porównaniu z odnośną aktywnością



Ryc. 5. Struktury biologicznie aktywnych polifenoli występujących w *Cyclopia subternata*: A. 3-C- $\beta$ -glukozyd iriflofenonu, B. 3',5'-di-C- $\beta$ -glukozyd floretyny, C. izoroifolina.

wyciągu. Poznanie nowych polifenoli ułatwi również lepsze zrozumienie działania estrogennego, przeciwmutagennego, przeciwnowotworowego oraz przeciw-cukrzycowego surowca.

### *Glycyrrhiza* spp., *Humulus lupulus* L.

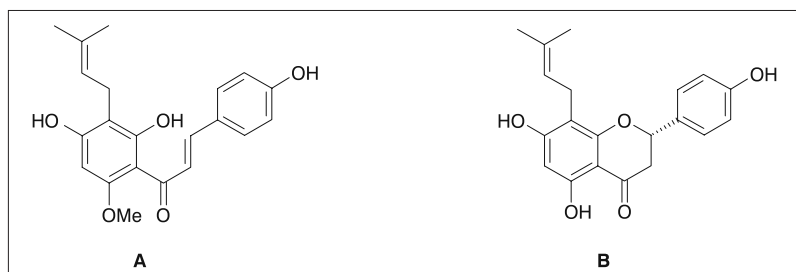
Interesujące badania aktywności estrogennej trzech gatunków *Glycyrrhiza* spp., rodz. *Fabaceae* w porównaniu z chmielom *Humulus lupulus* L., rodz. *Cannabaceae* przeprowadzili Hajirahimkhan i wsp. (27). Znane właściwości estrogenne chmielu, opisane w licznych publikacjach, warunkuje przede wszystkim flawanon – 8-prenylnaryngenina, która w badaniach *in vitro* wykazuje najsilniejsze działanie estrogenne ze wszystkich dotąd poznanych fitoestrogenów. Jest równorzędnym ligandem obu izoform receptora ER i wykazuje aktywność estrogeną zarówno na modelach komórek hormonozależnych (ang. *hormone responsive*), jak i na modelach zwierzęcych (27).

Obecny w chmielu chalkon ksantohumul, metaboliczny prekursor 8-prenylnaryngeniny (ryc. 6), nie wykazuje właściwości estrogennych; działa natomiast chemoprotekcyjnie poprzez indukowanie reduktazy chinonowej, enzymu detoksykacyjnego (28). Chmiel wykazuje aktywność estrogeną w raku śluzówki macicy oraz wobec komórek raka piersi MCF-7 (29).

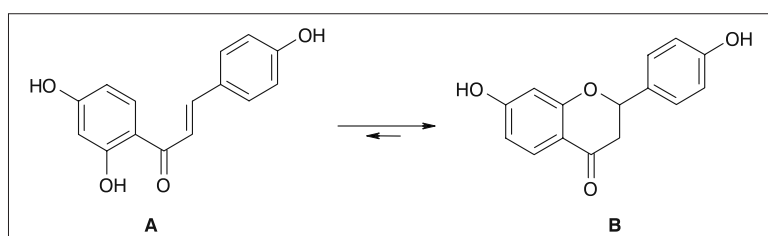
Korzeń lukrecji (*Glycyrrhiza* spp.) jest jednym z najstarszych surowców chińskiej medycyny ludowej, stosowanym od dawna w obrzękach, chorobach kobiecych, jako środek odtruwający i opatrunkowy oraz w przemyśle, jako środek zapachowy i słodzący.

Obecnie wchodzi w skład suplementów diety stosowanych w menopauzie (30). Znanych jest ponad 30 gatunków lukrecji o zróżnicowanym składzie chemicznym i różnym działaniu biologicznym, stąd też wstępnym celem pracy autorów było wytypowanie gatunków najsilniej estrogenie aktywnych. Do tej pory bowiem nie przeprowadzono porównawczych badań biologicznych poszczególnych gatunków rodzaju *Glycyrrhiza*. Nie wiadomo również, który gatunek jest obecny w menopauzalnych suplementach diety jak i to, który z nich stanowi surowiec z wyboru w aspekcie estrogennej skuteczności i bezpieczeństwa. Badaniom poddano wyciągi z trzech gatunków rodzaju *Glycyrrhiza*: *G. glabra*, *G. uralensis* i *G. inflata*, które zawierają różną zawartość dihydroflawanonu likwirityny (będącego glikozydem likwiritigeniny) oraz jej prekursora chalkonowego – izolikwiritigeniny.

Wymienione związki wykazały różną aktywność estrogenową w badaniach *in vitro*. Likwiritigenina wykazuje selektywność wobec ER $\beta$  w teście konkurencyjnego wiązania, podczas gdy izolikwiritigenina ma jednakową aktywność dla obu izoform ER. Przypuszcza się, że aktywność estrogena izolikwiritigeniny może wynikać z jej cyklizacji do likwiritigeniny w warunkach fizjologicznych (ryc. 7). W rezultacie przeprowadzonych badań Hajirahimkhan i wsp. (27) wykazali w odniesieniu do rodzaju *Glycyrrhiza* celowość dokładnej identyfikacji substancji działającej, ponieważ badane gatunki charakteryzują się różną zawartością likwiritigeniny i różnym stopniem aktywności estrogennej. Chmiel, chociaż wykazuje znaczącą



Ryc. 6. Struktury biologicznie aktywnych związków występujących w *Humulus lupulus*: A. ksantohumul, B. 8-prenylnaryngenina.



Ryc. 7. Cyklizacja izolikwiritigeniny (A) do likwiritigeniny (B).

aktywność estrogeną poprzez ER $\alpha$ , ustępuje lukrecji, która może wykazywać różnorodną aktywność estrogeną wynikającą z jej selektywności wobec ER $\beta$ , częściowej aktywności agonistycznej i nieenzymatycznej konwersji izolikwiritigeniny do likwiritigeniny.

### ***Nigella sativa* L.**

Ibrahim i wsp. (31) przeprowadzili randomizowane, kontrolowane placebo badania nasion czarnuszki siewnej *Nigella sativa* L., rodz. *Ranunculaceae*, odnośnie ich wpływu na profil lipidów u pacjentów wzrastającego ryzyka dyslipidemii, głównie u kobiet menopauzalnych. Zaobserwowali oni w grupie kobiet w tym okresie znaczący wzrost zachorowań na choroby sercowo-naczyniowe, większy niż u kobiet w innych grupach wiekowych, a także wśród mężczyzn w podobnym wieku. Dyslipidemia objawia się zaburzeniami profilu lipidów we krwi, dotyczącymi zawartości HDL, LDL i triglicerydów i stanowi jeden z ważnych czynników odpowiadających za wzrastające ryzyko takich chorób jak cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, choroby serca, a także nadwaga. Wymienieni autorzy (31) stwierdzili, że w Malesji choroby sercowo-naczyniowe były przyczyną ok. 25% wszystkich zgonów i że głównymi czynnikami odpowiedzialnymi za wysokie ryzyko tych chorób serca jest dyslipidemia sama lub w połączeniu z nadciśnieniem czy cukrzycą. Przeprowadzone badania wykazały ponadto korzystny wpływ składu chemicznego nasion czarnuszki siewnej na zawartość cholesterolu całkowitego, HDL, LDL i triglicerydów w surowicy krwi, jak również na polepszenie innych wskaźników biochemicznych, m.in. glikemii i ciśnienia krwi u kobiet menopauzalnych. Autorzy (31) wysoko oceniają korzystne właściwości lecznicze nasion czarnuszki siewnej i proponują upowszechnienie tego surowca w skali światowej.

### ***Agrimonia pilosa* Ledeb.**

Estrogenna aktywność wodnego ekstraktu z rzepiku szczeciniastego *Agrimonia pilosa* Ledeb., rodz. *Rosaceae*, była badana przez Lee i wsp. (32) w różnych testach *in vitro*. W oparciu o załączone piśmiennictwo autorzy opisują wielokierunkową aktywność biologiczną rośliny: właściwości przeciwutleniające, przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, hamujące aktywność acetylocholinesterazy. Surowiec zawiera substancje polifenolowe: kwercetynę, rutynę, katechinę i agrimoninę (HPLC) (33). Ostatniemu związkowi przypisuje się właściwości przeciwnowotworowe.

Ponieważ do tej pory brak jest danych dotyczących aktywności estrogennej wyciągu wodnego z omawianej rośliny, autorzy przeprowadzili odnośne badania z zastosowaniem kilku testów *in vitro*. Za pomocą

testu wiązania kompetycyjnego z zastosowaniem polaryzacji fluorescencyjnej wykazano, że wodny wyciąg z *A. pilosa* wiąże receptory estrogenowe (ER $\alpha$  i ER $\beta$ ). Właściwość proliferacyjną badano z użyciem komórek MCF-7. Stwierdzono, że *A. pilosa* stymuluje proliferację komórek MCF-7 pozytywnego receptora estrogenowego w sposób zależny od dawki. Przeprowadzone testy *in vitro* wykazały po raz pierwszy znaczącą aktywność estrogenową *A. pilosa*, sugerując możliwość stosowania przetworów z tej rośliny w zapobieganiu objawom menopauzy spowodowanym deficytem estrogenu oraz w ginekologii do leczenia schorzeń postmenopauzalnych.

### ***Labisia pumila* var. *alata* (Scheff.) Mez.**

*Labisia pumila* var. *alata* (Scheff.) Mez., rodz. *Myrinaceae*, jest znaną rośliną leczniczą, w wielu krajach stosowaną (*per os*) w ginekologii w postaci ekstraktów wodnych z całego ziała lub tylko z korzeni, jako środek regulujący zaburzenia menstruacyjne oraz kurczący macicę w terapii poporodowej. W krajach wschodniej Azji wyciąg wodny z korzeni *Labisia pumila* var. *alata* (LPva) jest obecnie dostępny w handlu, w postaci kapsułek lub jako składnik preparatów płynnych.

Analiza fitochemiczna wykazała w LPva obecność flawonoidów, saponin i triterpenów. Ostatnio stwierdzono *in vivo* ochronne działanie wyciągu LPva w osteoporozie wywołanej niedoborem estrogenu (34, 35). Przyjmuje się, że LPva wywiera w osteoporozie menopauzalnej działanie ochronne, podobne do estrogenu, zapobiegając naruszeniu równowagi między kształtowaniem się kości a ich resorpcją. Wszelkie naruszenie równowagi między tymi procesami skutkuje patologicznymi zmianami układu kostnego (34, 35). Znane są różne inne czynniki lub cytokiny odgrywające ważną rolę w przebudowie kości. Resorpcja jest regulowana przez RANKL (ang. *Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B-ligand*) – aktywator receptorowy nuklearnego czynnika kappa-B, oraz BMP-2 (ang. *Bone Morphogenetic Protein-2*) – białko morfogenetyczne kości 2, które odgrywa kluczową rolę w różnicowaniu osteoblastów, a także przez osteoprotegerynę (OPG) – czynnik wytwarzany przez osteoblasty. Podawanie serum RANKL myszom przyspiesza wzrost i aktywację osteoklastów, prowadząc w konsekwencji do osteoporozy. OPG działa jako antyresorpcyjny receptor wiążący się z RANKL, przez co hamuje dyferencjację osteoklastów i ich aktywność resorpcyjną układu kostnego, natomiast BMP-2, jak wspomniano wyżej, pobudza różnicowanie osteoblastów i odgrywa ważną rolę w odbudowie kości i ich regeneracji.

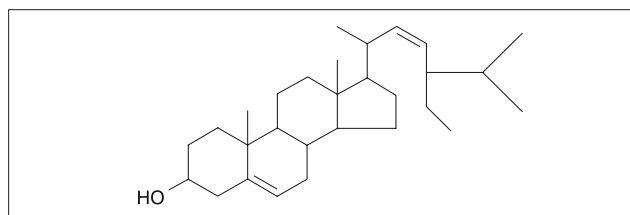
Fathilah i wsp. (36) przeprowadzili *in vivo* (na szczurach rasy Wistar) badanie molekularnego mechanizmu działania ochronnego LPva, na drodze pomiaru ekspresji genów kostno-zależnych. Ekspresję genów mierzono za pomocą testu rozgałęzionego DNA (ang. *branched DNA*). W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że aktywność LPva jest porównywalna z aktywnością HRT w regulowaniu ekspresji genów OPG, RANKL i BMP-2 u zwierząt pozbawionych jajników. Wykazano w ten sposób, że wyciąg LPva stanowi alternatywę dla HRT w zapobieganiu i leczeniu osteoporozy spowodowanej niedoborem estrogenu. LPva może również stanowić składnik suplementów stosowanych przez pacjentki z dyskomfortem poważnych efektów ubocznych po leczeniu ERT.

### *Crotalaria pallida* Ailton

Boldrin i wsp. (37) wychodząc z założenia, że poszukiwanie związków naturalnych o wzmożonej aktywności estrogennej (z wyłączeniem niepożądanych efektów ubocznych) jest bardzo istotnym zagadnieniem, zwrócili uwagę na brazylijską roślinę leczniczą *Crotalaria pallida* Ailton, rodz. *Fabaceae*, która w medycynie ludowej wielu krajów jest stosowana w obrzęku stawów (korzenie) oraz jako środek czerwiopędny (liście). Badania farmakologiczne wykazały również jej właściwości przeciwzapalne, przeciwbakteryjne oraz przeciwgrzybicze. Nie weryfikowano dotąd właściwości estrogennych tej rośliny ani jej wyciągów.

Surowiec do badań (liście) po wysuszeniu ekstrahowano etanolem. W wyciągu stwierdzono obecność stigmasterolu, flawonów pochodnych apigeniny, luteoliny oraz fenolokwasów. Właściwości estrogenne liści *C. pallida* badano testem rekombinacji drożdży (Recombinant Yeast Assay), a bezpieczeństwo stosowania tego surowca oceniano testem Amesa przez określenie aktywności mutagennej surowego ekstraktu, otrzymanej z niego frakcji dichlorometanowej oraz wyizolowanego stigmasterolu.

Stwierdzono, że wszystkie badane substancje wykazywały aktywność estrogenną (najsilniej stigmasterol) (ryc. 8). Surowy wyciąg wykazał przy tym właściwości mutagenne.



Ryc. 8. Budowa chemiczna stigmasterolu.

Pozbawiona efektu mutagennego frakcja dichlorometanowa oraz stigmasterol wyizolowany z liści *Crotalaria pallida* mogą być, według autorów, wykorzystane z dobrym skutkiem jako alternatywa do ERT w preparatach farmaceutycznych stosowanych w leczeniu lub zapobieganiu osteoporozie menopauzalnej spowodowanej niedoborem estrogenu.

### Podsumowanie

Zamieszczony w niniejszym opracowaniu przegląd wybranych pozycji piśmiennictwa obejmuje ogólne omówienie składu chemicznego, właściwości biologicznych oraz zastosowania w lecznictwie komplementarnym 11 surowców roślinnych o spodziewanej lub znanej aktywności estrogennej: *Rheum raponticum* L. (*Polygonaceae*), *Cyclopia genistoides*, *C. subternata* Vogel (*Fabaceae*), *Glycyrrhiza glabra* L., *G. inflata*, *G. uralensis* (*Fabaceae*), *Humulus lupulus* L. (*Cannabaceae*), *Nigella sativa* L. (*Ranunculaceae*), *Agrimonia pilosa* Ledeb. (*Rosaceae*), *Labisia pumila* var. *alata* (*Myriaceae*), *Crotalaria pallida* Ailton (*Fabaceae*). W większości cytowanych pozycji piśmiennictwa pojawia się apel o skoncentrowanie szczególnej uwagi na niesteroidowych substancjach roślinnych o właściwościach estrogennych. Zaleca się przy tym dokładne badanie składu chemicznego ekstraktów roślinnych, zawierających przeważnie wieloskładnikowe mieszaniny związków o różnym profilu działania biologicznego. Wyizolowanie aktywnych frakcji lub związków, przy aktualnej rozbudowie bazy analitycznej, umożliwia wyeliminowanie z mieszaniny substancji o niepożądanych właściwościach ubocznych. Autorzy wielu cytowanych doniesień podkreślają (w porównaniu z HRT) bezpieczeństwo stosowania roślinnych substancji o aktywności estrogennej oraz ich właściwości chemoochronne.

Obserwowane wzrastające zapotrzebowanie na lek roślinny zapobiegający zaburzeniom menopauzalnym oraz pojawianie się w sprzedaży coraz większej ilości specyfików sporządzanych na bazie wyciągów roślinnych, zawierających wieloskładnikowe mieszaniny związków o charakterze fitoestrogenów, wymaga opracowania szybkiej kontroli jakości, bezpieczeństwa oraz skuteczności stosowania tych farmaceutyków. Masullo i wsp. (38) wyrażają opinię, że obserwowany postęp w metodyce analitycznej umożliwia w coraz większym stopniu precyzyjną analizę fitochemiczną większości grup substancji naturalnych, występujących w wyciągach roślinnych. Należy jednak brać pod uwagę fakt, że za działanie lecznicze odpowiadają również, niekiedy w znacznym stopniu, substancje występujące w roślinie w małych ilościach, często aktualnie niewystarczających do ustalenia ich budowy

i działania farmakologicznego. Tym tłumaczy się na przykład fakt, że niektóre wyizolowane fitoestrogeny są w niewielkim stopniu aktywne (lub w ogóle nieaktywne) w porównaniu z wyciągiem zawierającym pełny zestaw składników mieszaniny obecnej w roślinie. Wobec narastających trudności izolacji i identyfikacji wszystkich składników badanych wyciągów, jakość preparatów roślinnych przekazywanych do celów handlowych powinna być kontrolowana na wstępie metodą „fingerprint”, która może stanowić prostą formę kontroli specyfików roślinnych, zawierających wiele nieznanymi związków występujących w wyciągach w niewielkich ilościach.

Girardi i wsp. (39) oraz Depypere i Comhaire (40) podsumowując dotychczasowe wyniki wielu randomizowanych, kontrolowanych placebo badań, prowadzonych z udziałem pacjentek menopauzalnych w celu zweryfikowania skuteczności fitoestrogenów w minimalizowaniu niekorzystnych objawów w tym okresie, nie znajdują dostatecznych potwierdzeń dla uznania przewagi korzystnego działania leczniczego substancji pochodzenia roślinnego nad tradycyjną HRT. Autorzy stwierdzają, że wiele ekstraktów roślinnych łagodzi co prawda objawy naczynioruchowe, lecz nie zawsze w stopniu wyższym niż placebo. W dalszym ciągu obserwuje się również brak jednoznacznych informacji odnośnie ryzyka lub korzyści stosowania substancji roślinnych w menopauzie oraz badań klinicznych z udziałem statystycznie wymaganej liczby pacjentek, niezbędnej do uwiarygodnienia rezultatów badań przedstawianych przez niektóre ośrodki naukowe. Z licznych doniesień piśmiennictwa wynika jednak, że kontynuowanie poszukiwań w świecie roślinnym substancji o działaniu estrogennym, stanowiących alternatywę dla HRT, jest z wielu względów zadaniem przyszłościowym i uzasadnionym.

### Piśmiennictwo

1. Gryszczyńska A, Gryszczyńska B, Opala B i wsp. Zastosowanie roślin leczniczych w menopauzie. *Post Fitoter* 2012; Cz. I, 79-92; Cz. II, 173-83. 2. Woźniak M, Murias M. Ksenoestrogeny: substancje zakłócające funkcjonowanie układu hormonalnego. *Ginekol Pol* 2008; 79:785-90. 3. Lockler TD, Huang Y, Frasier J i wsp. Estrogenic and progestagenic effects of extracts of *Justicia pectoralis* Lacq, in herbal medicine from Costa Rica used for treatment of menopause and PMS. *Maturitas* 2010; 66:315-22. 4. Frei-Kleiner S, Schaffner W, Rahls VW i wsp. *Cimicifuga racemosa* dried ethanolic extract in menopausal disorders: a double-blind placebo-controlled clinical trial. *Maturitas* 2005; 51:397-404. 5. Wuttke W, Seidlova-Wuttke D i wsp. The *Cimicifuga* preparation BNO 1055 vs. conjugated estrogens in a double-blind placebo-controlled study: effects on menopause symptoms and bone markers. *Maturitas* 2003; 44, 1:67-77. 6. Seidlova-Wuttke D, Jarry H, Becker T i wsp. Pharmacology of *Cimicifuga racemosa* extract BNO 1055 in rats: bone, fet and uterus. *Maturitas* 2003; 44, 1:39-50. 7. El-Shitany NA, Hegazy S, El-Desoky K. Evidence of antiosteoporotic and selective estrogen receptor modulation

activity of silymarin compared with ethinylestradiol in ovariectomized rats. *Phytomed* 2010; 17:116-25. 8. Boué SM, Wiese TE, Nehls S i wsp. Evaluation of the estrogenic effect of legume extracts containing phytoestrogens. *J Agric Food Chem* 2003; 51:2193-9. 9. Michel T, Halabalaki M, Skaltsounis AL. New concepts, experimental approaches and dereplication strategies for the discovery of novel phytoestrogens from natural sources. *Planta Med* 2013; 79:514-32. 10. Huntley AL, Ernst E. A systematic review of herbal medicinal products for the treatment of menopausal symptoms. *Menopause* 2000; 10, 5:465-76. 11. Mhady GB, Parrot J, Lee C i wsp. Botanical dietary supplement use in peri- and postmenopausal women. *Menopause* 2003; 10:65-72. 12. Beck V, Unterrieder E, Krenn L i wsp. Comparison of hormonal activity (estrogen, androgen and progestin) of standardized plant extracts for large scale use in hormone replacement therapy. *J Stereo Biochem Mol Biol* 2003; 84:259-68. 13. Panay N. Taking an integrated approach: managing women with phytoestrogens. *Climacteric* 2011; 14:2-7. 14. Usui T. Pharmaceutical prospects of phytoestrogens. *Endocr J* 2006; 53:7-20. 15. Kris-Etherton P, Hecker P, Bonanome A i wsp. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med* 2002; 113 (suppl. 9B):71-88. 16. Moreira AC, Silva AM, Santos MS i wsp. Phytoestrogens as alternative hormone replacement therapy in menopause: What is real, what is unknown. *J Steroid Biochem Mol Biology* 2014; 143:61-71. 17. Vollmer G, Papke A i Zierau O. Treatment of menopausal symptoms by an extract from the roots of rhapontic rhubarb: the role of estrogen receptors. *Chinese Med* 2010; 5:7. 18. Heger M, Ventskovskiy BM, Borzenko I i wsp. Efficacy and safety of a special extract of *Rheum raponticum* (Err 731) in perimenopausal women with climacteric complaints: a 12-week randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Menopause* 2006; 13:744-59. 19. Kaszkin-Betag M, Ventskovskiy BM, Krawczenko A i wsp. The special extract Err 731 of the roots of *Rheum raponticum* decreases anxiety and improves health state and general well-being in perimenopausal women. *Menopause* 2007; 14:270-83. 20. Herbst AL. Diethylstilbestrol and adenocarcinoma of the vagina. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:1576-8. 21. Crabtree JS, Peano BJ, Zhang X i wsp. Activity of three selective estrogen receptor modulators on hormone-dependent responses on the mouse uterus and mammary gland. *Mol Cell Endocrinol* 2008; 1-2:40-6. 22. Visser K, Mortimer M, Louw A. *Cyclopia* extracts act as ER $\alpha$  antagonists and ER $\beta$  agonists, *in vitro* and *in vivo*. *PLoS ONE* 2013; 8:e79223. 23. Verhoog NJ, Joubert E, Louw A. Evaluation of the phytoestrogenic activity of *Cyclopia genistoides* (honeybush) methanol extracts and relevant polyphenols. *J Agric Food Chem* 2007; 55:4371-81. 24. Kamara BJ, Brand DJ, Brandt EV i wsp. Phenolic metabolites from honeybush tea *Cyclopia subternata*. *J Agric Food Chem* 2004; 52:5391-5. 25. Kokotkiewicz A, Łuczkiwicz M, Sowiński P i wsp. Isolation and structure elucidation of phenolic compounds from *Cyclopia subternata* Vogel (honeybush) intact plant and *in vitro* cultures. *Food Chem* 2012; 133:1373-82. 26. Mfenyana C, De Beer D, Joubert E, Louw A. Selective extraction of *Cyclopia* for enhanced *in vitro* phytoestrogenicity and benchmarking against commercial phytoestrogen extracts. *J Steroid Biochem Molecular Biol* 2008; 112:74-86. 27. Hajirahimkhan A, Simmler C, Yuan Y i wsp. Evaluation of estrogenic activity of Licorice species in comparison with hops used in botanicals for menopausal symptoms. *PLoS ONE* 2013; 8:e67947. 28. Dietz BM, Kang YH, Liu G i wsp. Xanthohumol isolated from *Humulus lupulus* inhibits menadione-induced DNA damage through induction of quinone reductase. *Chem Res Toxicol* 2005; 18:1296-305. 29. Over CR, Yao P, Chadwick LR i wsp. Comparison of the *in vitro* estrogenic activities of compounds from hops (*Humulus lupulus*) and red clover (*Trifolium pratense*). *J Agric Food Chem* 2005; 53:6246-53.



30. Taylor M. Complementary and alternative medicine preparations used to treat symptoms of menopause. *Men Med* 2012; 210:1-8. 31. Ibrahim RM, Hamdan NS, Mahmud R. A randomised controlled trial on hypolipidemic effects of *Nigella sativa* seeds powder in menopausal women. *J Translat Med* 2014; 12:82. 32. Lee YM, Kim JB, Bae JH i wsp. Estrogen-like activity of aqueous extract from *Agrimonia pilosa* Ledeb. in MCF-7 cells. *Complement Altern Med* 2012; 12:260. 33. Kato H, Li W, Koike M i wsp. Phenolic glycosides from *Agrimonia pilosa*. *Phytochem* 2010; 71(16):1925-9. 34. Nazrun AS, Ping LL, Norliza M i wsp. The effects of *Labisia pumila* var. *alata* on bone markers and bone calcium in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Ethnopharmacol* 2010; 133:538-42. 35. Fathilah SN, Ahmad NS, Norazlina M i wsp. *Labisia pumila* protects the bone of estrogen-deficient rat model: a histomorphometric study. *J Ethnopharmacol* 2012; 142:294-9. 36. Fathilah SN, Mohamed N, Muhammad N i wsp. *Labisia pumila* regulates bone-related genes expressions in postmenopausal osteoporosis model. *Complement Altern Med* 2013; 13:217. 37. Boldrin KP, Resende FA, Hohne APO i wsp. Estrogenic and mutagenic activities of *Crotalaria pallida* measured by recombinant yeast assay and Ames test. *Complement Altern Med* 2013; 13:216. 38. Masullo M, Montoro P, Mari A i wsp. Medicinal plants in the treatment of women's disorders analytical strategies to assure quality, safety and efficacy. *J Pharm Biomed Anal* 2015; 12 (w druku). 39. Girardi A, Piccinni C, Raschi E i wsp. Use of phytoestrogens and effects perceived by postmenopausal women: results of a questionnaire-based survey. *BMC Complement Altern Med* 2014; 14:262. 40. Depypere HT, Comhaire FH. Herbal preparations for the menopause: Beyond isoflavones and black cohosh. *Maturitas* 2014; 77:191-4.

otrzymano/received: 22.07.2015  
zaakceptowano/accepted: 10.08.2015

Adres/address:  
\*dr Adam Kowalczyk  
Katedra i Zakład Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław  
tel. +48 (71) 784-02-22  
e-mail: adam.kowalczyk@umed.wroc.pl