

Received: 2010.07.30
Accepted: 2010.12.13
Published: 2010.12.30

Bioaktywne metabolity wtórne roślin z rodzaju *Physalis*

Bioactive secondary metabolites produced by plants of the genus *Physalis*

Karolina Agata*, Joanna Kusiak*, Bartłomiej Sępień, Katarzyna Bergier,
Elżbieta Kuźniak

Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego

Streszczenie

Rodzaj *Physalis* L. – miechunka (*Solanaceae*) obejmuje rośliny, które naturalnie występują głównie w krajach Ameryki Południowej i Środkowej. Są one bogatym źródłem metabolitów wtórnych, takich jak witanolidy, fyzaliny, alkaloidy tropanowe i nortropanowe. Dzięki ich obecności rośliny z rodzaju *Physalis* L. od wieków były stosowane w krajach tropikalnych jako naturalne leki na choroby układu moczowego i skóry, rzeżączkę, malarię, reumatoidalne zapalenia stawów, a nawet choroby nowotworowe. W pracy scharakteryzowano najważniejsze klasy metabolitów wtórnych rodzaju *Physalis* L., ich budowę chemiczną, występowanie, szlaki biosyntezy, a także aktywność biologiczną, ze szczególnym uwzględnieniem aktywności przeciwnowotworowej.

Słowa kluczowe:

***Physalis* • witasteroidy • fyzaliny • witanolidy • kalisteginy • alkaloidy tropanowe i nortropanowe • działanie przeciwnowotworowe**

Summary

Plants from the genus *Physalis* L. (family *Solanaceae*), native to warm and subtropical regions of Central and South America, are particularly rich in secondary metabolites, e.g.: withanolides, physalins, calystegines, tropane and nortropane alkaloids. Due to the high biological activities of these compounds, in the tropics *Physalis* plants have been used for centuries as medicinal herbs in the treatment of urinary and skin diseases, gonorrhoea, ulcers, sores and as a vermifugal drug. This review describes the main categories of secondary metabolites, their distribution, chemistry, biosynthesis as well as biological activities. Particular attention is given to their potent anticancer activities.

Key words:

***Physalis* • withasteroids • physalins • withanolides • calystegines • tropane and nortropane alkaloids • antitumor activity**

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=928037>

Word count:

3093

Tables:

1

Figures:

5

References:

56

Adres autorki:

dr hab. Elżbieta Kuźniak, Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego, ul. S. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; e-mail: elkuz@biol.uni.lodz.pl

* K.A. i J.K. są równorzędnymi pierwszymi autorkami.

WPROWADZENIE

Rodzaj *Physalis* (L.) należący do rodziny *Solanaceae* (psiankowate) obejmuje prawie 120 gatunków naturalnie występujących w Ameryce Środkowej i Południowej, z czego 70 to gatunki endemiczne występujące w Meksyku [31]. Z regionów obu Ameryk rośliny te rozprzestrzeniły się prawie na cały świat, także do Polski. Większość roślin reprezentujących ten rodzaj osiąga wysokość 40–100 cm, ma grubą łodygę, liście trójkątne jajowate, a ich owocami są jagody [14]. Nazwa *Physalis* wywodzi się z greki i oznacza miech, pecherz lub bańkę. Najpowszechniej występującą rośliną w Polsce, należącą do rodzaju *Physalis*, jest miechunka rozdęta, inaczej miechunka czereśniowa (*Physalis alkekengi* L. = *Physalis hymnalis* Salisb.). Podczas kwitnienia ma mało wyrzäste, białe kwiaty, a po ich przekwitnięciu dno kwiatowe silnie się rozrasta tworząc pomarańczowoczerwony, pięciorzębki kielich otaczający kulistą jagodę. Owoce innych gatunków: miechunki pomidorowej, zwanej też miechunką lepką (*P. philadelphica* Lam. = *P. ixocarpa* Brot. Ex Hornem) i miechunki jadalnej, inaczej peruwiańskiej (*Physalis peruviana* L. = *Physalis esculenta* Salisb. = *Physalis edulis* (Sims) Bodwich), o słodko-gorzkim smaku, tradycyjnie wykorzystywane są do produkcji sosu salsa i dżemów [15]. Roślinom zaliczanym do rodzaju *Physalis* od wieków przypisuje się właściwości lecznicze i prozdrowotne. Przykładem mogą być ekstrakty z łodyg *P. angulata* (L.), które są powszechnie stosowane w wielu krajach tropikalnych jako tradycyjne leki na takie choroby jak: rzeżączka, malaria, zaburzenia snu, infekcje grzybicze, hiperglikemia, zapalenie wątroby, reumatoidalne zapalenie stawów, a nawet choroby nowotworowe [30,47]. Ponadto ekstrakty z korzeni *P. minima* mogą działać przeciwgorączkowo, a także mogą być wykorzystywane jako środek czerwiopędny [19]. Liście *P. minima* są także bogatym źródłem acetylocholinoesterazy, enzymu rozkładającego neuroprzekaznik – acetylocholinę [26]. Dziś, po

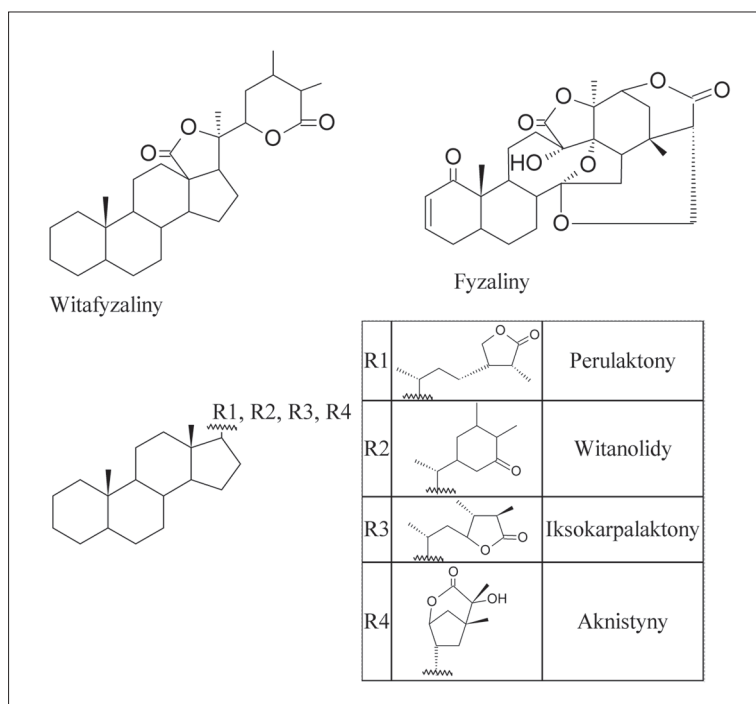
wielu latach badań wiadomo, że te wszystkie właściwości są dzięki metabolitom wtórnym, w które obfitują rośliny z rodzaju *Physalis*. W warunkach naturalnych w dużych ilościach syntetyzują one witasteroidy, do których zalicza się m.in. fyzaliny, witanolidy i iksokarpalaktony oraz alkaloidy tropanowe i nortropanowe (kalisteginy). Metabolity zaliczane do steroli i flawonoidów są wytwarzane w mniejszych ilościach [38]. Zainteresowanie przemysłu farmaceutycznego wykorzystaniem gatunków z rodzaju *Physalis* do produkcji substancji bioaktywnych jest związane przede wszystkim z różnorodnością wytwarzanych metabolitów wtórných, których aktywność biologiczna odnotowana jest w wielu rejestrach etnobotanicznych i potwierdzona w biotestach. Duże znaczenie ma również możliwość uprawy tych roślin w wielu strefach klimatycznych oraz łatwość prowadzenia kultur *in vitro*, które mogą być stosowane jako uzupełniający lub alternatywny system do wysoko wydajnej produkcji metabolitów wtórných [8].

WITASTEROIDY

Witasteroidy to główna grupa metabolitów wtórných syntetyzowanych przez rośliny należące do rodzaju *Physalis*. Ich wspólną cechą jest charakterystyczny tetracykliczny układ steroidowy ergostanu składający się z trzech pierścieni sześciowęglowych i jednego pięciowęglowego, oznaczanych A-D. W zależności od zróżnicowania strukturalnego wyodrębniono 6 klas witasteroidów: witanolidy, wita fyzaliny, aknistyny, iksokarpalaktony, perulaktony i fyzaliny (ryc. 1) [51].

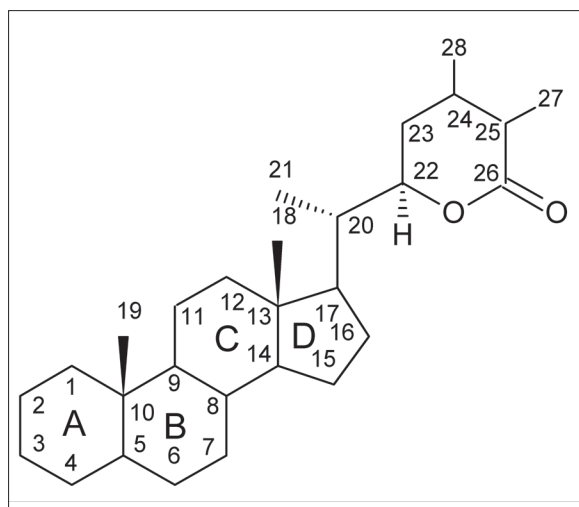
Ze względu na właściwości biologiczne na szczególną uwagę zasługują witanolidy i fyzaliny.

Witanolidy po raz pierwszy wyodrębniono z witanii ospalej, inaczej indyjskiego żeń-szenia (*Withania somnifera* L. = *Physalis somnifera* L.), występują w 15 rodzajach roślin



Ryc. 1. Struktura chemiczna witasteroidów





Ryc. 2. Ogólny plan budowy witanolidów

z rodziny *Solanaceae*. Ich obecność stwierdzono także u krapielowatych (*Taccaceae*), bobowatych (*Fabaceae*) i jasnotowatych (*Lamiaceae*). Witanolidy występują w nadziemnych częściach roślin, a szczególnie obficie w liściach [36]. Schemat budowy witanolidów oparty jest na planie 28-węglowego laktanu steroidowego (ryc. 2), którego struktura jest zmodyfikowana przez obecność grupy hydroksylowej lub ketonowej.

Szlak biosyntezy witanolidów nie jest dobrze poznany. Początkowe etapy są wspólne dla syntezy witanolidów i fyzalin. Dotychczasowe badania pozwoliły stwierdzić, że prekursorem jest kwas mewalonowy. Wiele reakcji chemicznych prowadzi do powstania lanosterolu przekształcanego do metylenocholesterolu, który może być prekursorem biosyntezy wielu laktonów steroidowych. Przypuszcza się, że kolejność reakcji oraz ich produkty pośrednie mogą się nieznacznie różnić w zależności od gatunku. Witanolidy powstają najprawdopodobniej przez hydroksylację węgla C-22 oraz δ -laktonizację między 22 a 26 atomem węgla 24-metylenocholesterolu [36].

Laktony steroidowe, zwłaszcza z fragmentem laktonowym w pierścieniu D, charakteryzują się znaczną aktywnością biologiczną. Lan i wsp. [30] wyizolowali 7 witanolidów z miechunki jadalnej, które wykazywały aktywność cytotoxyczną przeciwko nowotworom płuc, sutka oraz wątroby. Poza działaniem cytotoxycznym, witanolidy wpływają ochronnie na tkanki neuronalne przez stymulację aktywności enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy i peroksydazy glutationowej [11]. Dodatkowo u szczurów wykazano działanie przeciwłkowe i antydepresyjne witanolidów, podobne do tego wywołanego przez imipraminę (lek stosowany w leczeniu depresji). Witanolidy znosiły immunosupresję oraz wywołane chronicznym stresem zaburzenia seksualne występujące u samców. Miały także wpływ na podniesienie aktywności makrofagów otrzewnowych [10]. W badaniach prowadzonych na liniach komórkowych SH-SY5Y ludzkich neuronów korowych wykazano, że w przypadku uszkodzeń tych komórek, witanolid A oraz glikozydy witanolidów (witanozydy IV i VI) wykazywały zdolność ich regeneracji oraz naprawy połączeń synaptycznych. Zanikowi

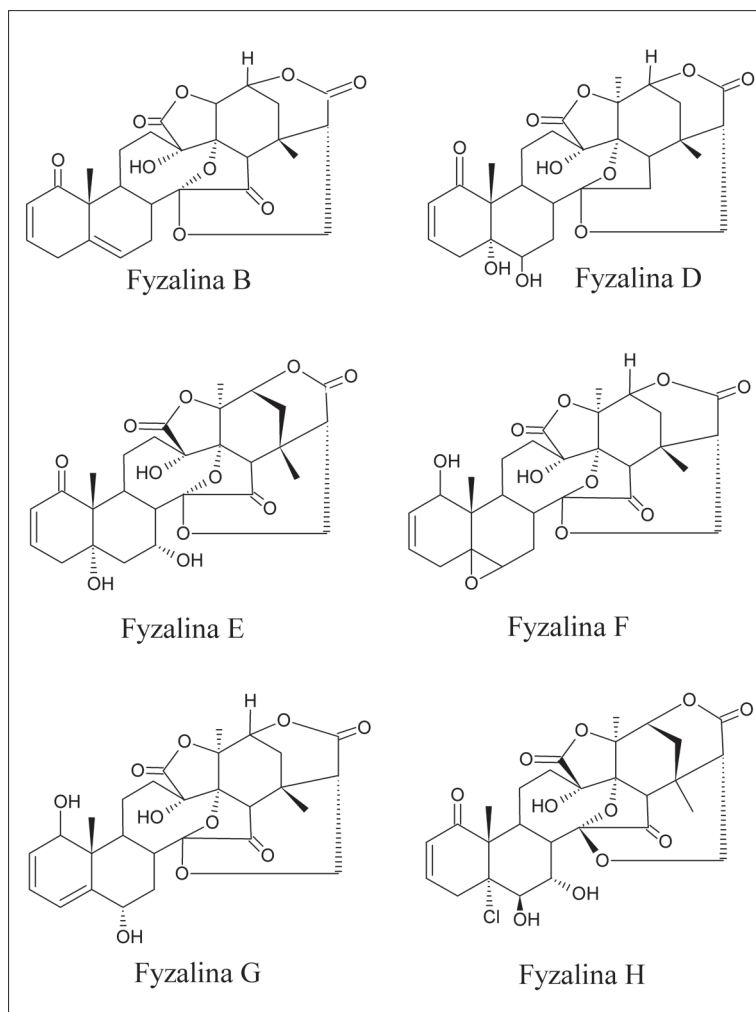
komórek dendrytycznych zapobiegało zwłaszcza podawanie witanozydów IV i VI [50].

W badaniach *in vitro* witanolidy wykazywały również aktywność przeciwpierwotniakową w stosunku do *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium falciparum*, *P. berghei* i *Leishmania mexicana* wywołujących chorobę Chagasa w Afryce Południowej i Ameryce Środkowej, malarię i leishmaniozę [17,33].

Fyzaliny, wyizolowane po raz pierwszy w 1852 r., to steroidowe metabolity wtórne powszechnie występujące w roślinach należących do rodzaju *Physalis*, które charakteryzują się obecnością szkieletu 16,24-cyklo-13,14-seco-ergostanu [34]. Dotąd zidentyfikowano około 20 fyzalin, które oznaczają się literami A-Z. Związki te różnią się rozmieszczeniem, liczbą i rodzajem tlenowych grup funkcyjnych. Do najważniejszych należy zaliczyć fyzaliny B, D, E, F, G i H (ryc. 3) [51].

Fyzaliny wykazują podobieństwo strukturalne i biogenetyczne do witanolidów, od których się wywodzą. Mają właściwości przeciwzapalne, immunomodulacyjne, przeciwbakteryjne, a także indukują aktywność reduktazy chinonu [19]. Stwierdzono, że fyzaliny B i F hamowały w warunkach *in vitro* wzrost komórek białaczkowych [18], a ekstrakty zawierające mieszaninę fyzalin A, B, D i F wraz z glikozydami, takimi jak 3-O-neohesperozyd mirecytyny, wykazywały działanie antynowotworowe na linie komórkowe HA 22T wątrobiaka, HeLa raka szyjki macicy i KB-16 komórek jamy nosowo-gardłowej [19]. Istotne znaczenie w terapii nowotworowej może mieć fyzalina B, która jest inhibitorem proteasomu zaangażowanego w selektywną degradację białek ważną w proliferacji komórek nowotworowych. Wstępne dane wskazują, że mechanizm działania fyzaliny B może być odmienny od opisanego dla cytostatyków, np. bortezomibu. Dodatkowo fyzalina B ma właściwości proapoptotyczne oraz cytotoxyczne w stosunku do komórek nowotworowych [53].

W innych badaniach testowano aktywność fyzalin B, F i G, które w kulturach makrofagów powodowały zmniejszenie wytwarzania tlenku azotu (NO), będącego oprócz interleukiny 6, 12 i czynnika martwicy nowotworów (TNF- α) mediatorem reakcji zapalnych. Natomiast traktowanie fyzaliną D nie dawało takiego efektu [47]. Późniejsze badania wykazały, że fyzalina E zmniejszała stężenie prozapalnych cytokin oraz obrzęku w ostrym zapaleniu skóry [40]. W innych testach badano immunosupresyjny wpływ fyzaliny H na limfocyty T w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Wykazano, że fyzalina H ograniczała proliferację komórek T, a jednocześnie wykazywała przy tym stosunkowo małą cytotoxyczność. W warunkach *in vivo*, u myszy traktowanych fyzaliną H w różnych stężeniach, zaobserwowano zależne od dawki zahamowanie wzrostu komórek pośredniczących w reakcji nadwrażliwości typu późnego (delayed type hypersensitivity – DTH). Fyzalina H wpływała także na stężenie cytokin, takich jak interleukiny 2, 10, 4, interferon- γ oraz TNF- α . Te właściwości fyzaliny H powodują, że może być wykorzystana podczas przeprowadzania transplantacji organów, a także do osłabiania odporności w chorobach autoimmunizacyjnych [56]. W badaniach *in vivo* wykazano, że w przeszczepach alogenicznych fyzaliny wpływały na zmniejszenie stężenia prozapalnych cytokin oraz hamowały proliferację makrofagów. U myszy,



Ryc. 3. Struktura chemiczna wybranych fyzalin

którym przeszczepiano serca zaobserwowano znacznie rzadsze odrzucanie przeszczepów (po 15 dniach od przeszczepu – 100% przyjętych przeszczepów, po 30 dniach – 50–66%) [47]. Ponadto badania Soaresa i wsp. [47] wykazały, że fyzaliny B, F i G miały silne działanie hamujące na splenocyty śledziony w warunkach *in vitro*.

Ekstrakt z *P. angulata* zawierający mieszaninę fyzalin wykazywał antybakteryjne działanie przeciwko *Mycobacterium tuberculosis*, *M. avium*, *M. kansasii*, *M. malmoense* i *M. intracellulare* [39]. Wzrost bakterii *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas solanacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*, *X. vesicatoria* był hamowany przez ekstrakt z liści *P. minima* [44]. Natomiast ekstrakt z działek kielicha *P. angulata* zawierający fyzaliny B, D, F i G hamował wzrost różnych szczepów *Staphylococcus aureus* oraz *Neisseria gonorrhoeae*. Ten sam ekstrakt nie wykazywał jednak aktywności w stosunku do wybranych szczepów bakterii *P. aeruginosa*, *E. coli*, a także grzyba *Candida albicans* [45]. Fungistatyczne działanie w stosunku do *Aspergillus ochraceous*, *A. flavipes*, *Fusarium verticilloides* i *Penicillium* sp. wykazywał natomiast ekstrakt z liści *P. minima* [44].

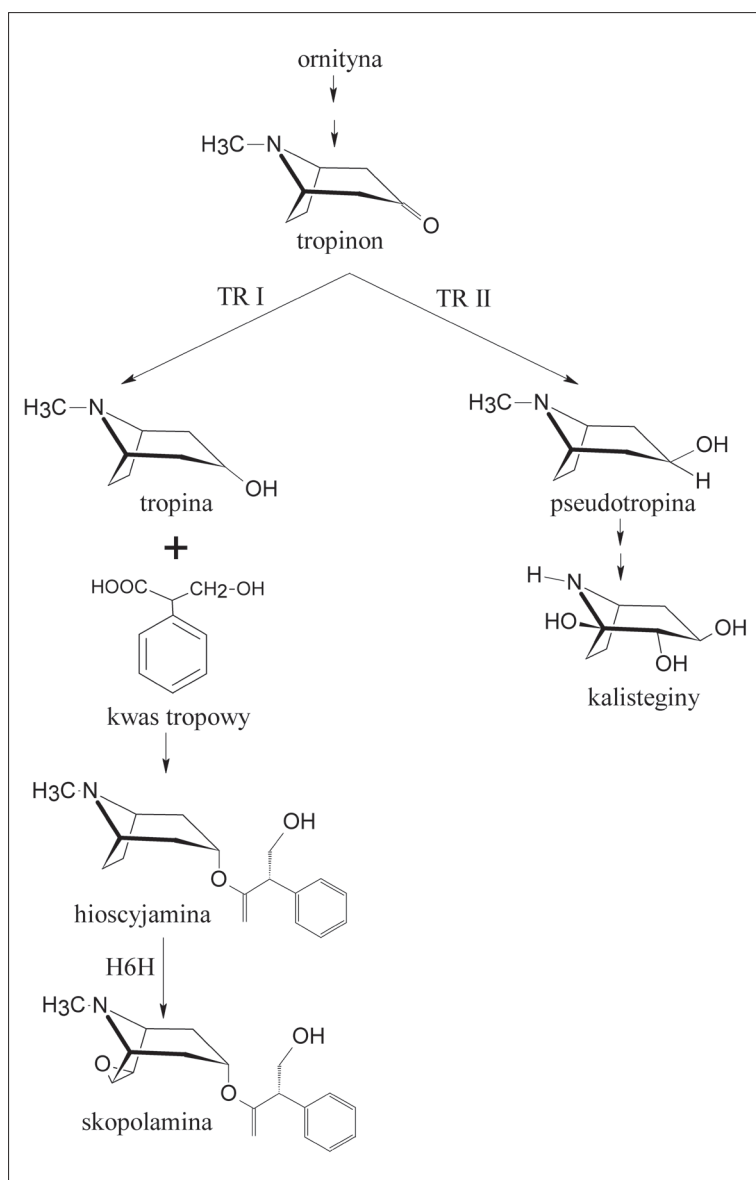
Fyzaliny, podobnie jak aknistyny, mogą być wykorzystywane w leczeniu choroby Chagasa, powodującej śmierć około 18 tysięcy ludzi rocznie, wywołanej przez *T.*

cruzi, a przenoszonej przez larwy krwio pijnego pluskwiaka *Rhodnius prolixus*. Wykazano, że fyzaliny B, D, F i G zmniejszają odporność *R. prolixus*, gdy ulega on zakażeniu mikroorganizmami, np. *Enterobacter cloacae* [16]. Może to być wykorzystane do eliminowania *R. prolixus* jako wektora przenoszenia chorób. Fyzaliny są także stosowane w leczeniu leishmaniozy skórnej wywołanej przez liczne pierwotniaki z rodzaju *Leishmania*. Aktywność fyzalin B, D i F badano na dwóch modelach. W warunkach *in vitro* kultury makrofagów zakażone pierwotniakami *Leishmania* traktowano fyzalinami w stężeniu, które nie było toksyczne dla komórek. W rezultacie zaobserwowano znacznie mniejszą liczbę makrofagów zakażonych pierwotniakami. W warunkach *in vivo* myszy BALB/c zakażono *Leishmania amazonensis*, a następnie leczono podając miejscowo fyzalinę F. Spowodowało to zmniejszenie powierzchni zmian skórnych oraz histopatologicznych. Badania zależności struktury chemicznej od aktywności fyzalin wykazały, że największą skutecznością w stosunku do pierwotniaków *Leishmania* charakteryzowały się fyzaliny z grupą -OH przy węglach C-5, C-6 i C-11 [24,6].

ALKALOIDY TROPANOWE

Alkaloidy tropanowe są pochodnymi tropanu i można je podzielić na dwie grupy. Pierwsza to grupa tropiny, czyli





Ryc. 4. Schemat syntezy alkaloidów tropanowych i kalistegin; TR I – reduktaza tropinonu I; TR II – reduktaza tropinonu II; H6H – hydroksylaza hioscyjaminowa

3-hydroksypochodnej tropanu (tropan-3-ol). Tropina stanowi szkielet struktury chemicznej alkaloidów należących do tej kategorii i może występować w dwóch postaciach izomerycznych: tropan-3 α -ol i tropan-3 β -ol. Wśród najważniejszych alkaloidów tropanowych tej grupy należy wymienić hioscyjaminę, skopolaminę i atropinę, które powszechnie występują u wielu gatunków zaliczanych do *Solanaceae*, np. miechunki rozdętej, pokrzyku wilczej jagody (synonimy: wilcza wiśnia, wilcza jagoda, belladonna; *Atropa belladonna* L.), lulka czarnego (*Hyoscyamus niger* L.), bielunia dziedzierzawy (*Datura stramonium* L.), lulecznicy (*Scopolia*), *Duboisia* oraz witanii ospalej. Ich obecność została potwierdzona także w rodzinie *Convolvaceae* (powojowate). Druga grupa – ekgoniny charakteryzuje się obecnością układu tropan-3 β -olu i grupy karboksylowej przy węglu C-2. Najważniejsze alkaloidy tropanowe zaliczane do tej grupy to ekgonina i kokaina [21,29].

Biosynteza alkaloidów tropanowych odbywa się w korzeniach. Jest to proces wieloetapowy i po powstaniu tropinonu

szlak biosyntezy ulega rozgałęzieniu, prowadząc do powstania alkaloidów tropanowych oraz kalistegin. Pierwszym etapem biosyntezy alkaloidów tropanowych i kalistegin (ryc. 4) jest powstanie N-metyloputrescyny z udziałem N-metylotransferazy putrescynowej (PMT), która dalej przekształcana jest do N-metylo- Δ' -piroliny. W kolejnym etapie N-metylo- Δ' -pirolina kondensuje z dwoma cząsteczkami acetylo-S-CoA, co prowadzi do powstania tropinonu. Następnie w wyniku działania reduktazy tropinonu I (TRI) i z udziałem NADPH syntetyzowana jest tropina, której reakcja z kwasem tropowym prowadzi do powstania hioscyjminy. Skopolamina jest pochodną hioscyjminy, a powstaje dzięki aktywności hioscyjmino-6 β -hydroksylazy (H6H), która hydroksyluje hioscyjaminę i powoduje powstanie mostka epoksydowego [28].

Prawie 180 lat temu znany chemik F.F. Runge wykazał wpływ atropiny wyizolowanej z pokrzyku wilczej jagody na rozszerzenie źrenicy oka kota. Jego eksperyment zapoczątkował badania farmakologiczne nad pochodnymi

tropanów. Badania nad hioscyjamina, atropiną i skopolaminą prowadzone były przez prawie dwa wieki. Przypadkowy kontakt z pokrzykiem wilczą jagodą może powodować rozszerzenie źrenicy oka człowieka i wywoływać zaburzenia neurooftalmologiczne [54]. Naturalnymi związkami tropanowymi, które powodują te zmiany są: hioscyjamina, atropina, anizodamina (6 β -hydroksyhioscyjamina), anizodyna, skopolamina i są stosowane do dziś [32]. Jednak najważniejsze medyczne zastosowanie alkaloidów tropanowych związane jest z tym, że działają one na układ nerwowy. Atropina, czyli racemiczna, optycznie nieczysta postać hioscyjminy, wpływa hamująco na układ przywspółczulny przez blokowanie receptorów muskarynowych, co powoduje m.in. rozkurcz mięśni gładkich przewodu pokarmowego, dróg żółciowych, moczowych i oskrzeli, a także hamowanie odruchu wymiotnego, zmniejszenie wydzielania śluzu w oskrzelach oraz rozszerzenie źrenicy oka [28,35]. Atropina stosowana jest również w leczeniu zapalenia błony śluzowej żołądka poprzez hamowanie wydzielania kwasów i pepsyny oraz osłabienie napięcia mięśni gładkich żołądka i jelit [27]. W przypadku pacjentów z ostrym zawałem mięśnia sercowego oraz bradykardią zatokową zastosowanie atropiny dożylnie powodowało obniżenie lub całkowite zniesienie przedwczesnych skurczów komorowych (87% chorych), a także polepszenie przewodzenia przedsionkowo-komorowego (85% chorych), a u 88% pacjentów z hipotensją następował wzrost ciśnienia tętniczego krwi do wartości prawidłowych. Atropina może być także stosowana jako antidotum w zatruciach inhibitorami cholinesterazy, takimi jak fizostygmina, jej syntetyczne pochodne, a także alkilowe fosforany mające zastosowanie jako insektycydy [22,28]. Skopolamina ma podobne działanie do atropiny, jednak wykazuje także działanie depresyjne na czynności mózgu [29]. Hioscyjamina powoduje hamowanie przekazywania sygnałów przez neurony. Dzieje się tak, ponieważ alkaloid ten blokuje receptory cholinergiczne konkurując z acetylocholiną o miejsce wiązania [35]. Wymienione właściwości sprawiają, że hioscyjamina i skopolamina są stosowane w leczeniu: astmy, choroby Parkinsona, choroby lokomocyjnej, a także przedoperacyjnie. Znajdują również zastosowanie jako środki przeciwbólowe, przeciwskurczowe, uspokajające [41]. Ponadto alkaloidy tropanowe łączą się z receptorami nikotynowymi. Właściwość taką mają atropina i skopolamina [22]. W przeciwieństwie do hioscyjminy i atropiny, które w zależności od dawki mogą działać zarówno hamująco jak i pobudzająco na ośrodkowy układ nerwowy, skopolamina ma tylko tę pierwszą właściwość. Dlatego jest często stosowana jako lek przeciwwymiotny w niektórych zabiegach operacyjnych, a także w chorobie lokomocyjnej. Zatrucie hioscyjamina, atropiną, skopolaminą spowodowane są blokowaniem układu parasympatycznego, co objawia się np. rozszerzeniem źrenic, niepokojem ruchowym, omamami, a nawet śpiączką i porażeniem układu oddechowego. Przedawkowanie alkaloidów tropanowych typu hioscyjminy może wywoływać halucynacje. Alkaloidy tropanowe roślin z rodzaju *Physalis* były wykorzystywane także jako tzw. „leki prawdy”. Ludzie, którym podano duże dawki tych związków traciли zdolność samokontroli. W ten sposób zmuszano ich do wyjawiania prawdy [22].

Odkąd odkryto, że receptory muskarynowe acetylocholinę są obecne również u owadów, stwierdzono, że hioscyjamina, atropina i skopolamina są neurotoksynami także

dla nich. Ekologiczne znaczenie alkaloidów tropanowych nie zostało jeszcze szczegółowo opisane, jednak wiadomo, iż rośliny syntetyzujące te związki mają zdolność do obrony przed owadami roślinożernymi [52]. W badaniach dotyczących żerowania larw zwójki tytoniu (*Heliothis virescens*) na liściach *A. belladonna* stwierdzono znaczny wzrost stężenia alkaloidów w porównaniu z kontrolą. Efekt ten był widoczny, gdy larwy uszkodziły 9% tkanek liścia, a te same wyniki otrzymano podczas mechanicznego niszczenia tkanek [22]. Przykładem wykorzystania skopolaminy i hioscyjminy w uprawach ekologicznych może być ich zastosowanie w zwalczaniu patogenów ryżu, takich jak *Magnaporthe oryzae* i *Rhizoctonia solani* wywołujących odpowiednio rdzę i zarzę zbożową. Zarówno hioscyjamina, jak i skopolamina wpływają na zahamowanie kiełkowania zarodników obydwu grzybów [1].

Obecnie surowiec roślinny przeznaczony do izolacji alkaloidów tropanowych jest głównie pochodzenia hodowlanego. Wykorzystuje się hybrydowe klony *Duboisia* z plantacji w Queensland w Australii, które nie zawierają pochodnych nikotyny obniżających wydajność izolacji skopolaminy [23]. Jak się wydaje, obiecującą alternatywą pozyskiwania bioaktywnych alkaloidów tropanowych i fyzalin może być wytwarzanie tych związków w kulturach komórkowych [8], a zwłaszcza korzeniach włośnikowatych [8,12]. Selekcja bardzo wydajnych klonów oraz dobór odpowiednich warunków hodowli mogą doprowadzić do uzyskania istotnie wyższej i stabilnej produkcji pożądanego związku. Ponadto mogą one być wydzielane bezpośrednio do podłoża, co znacznie ułatwia ich odzyskiwanie z materiału roślinnego.

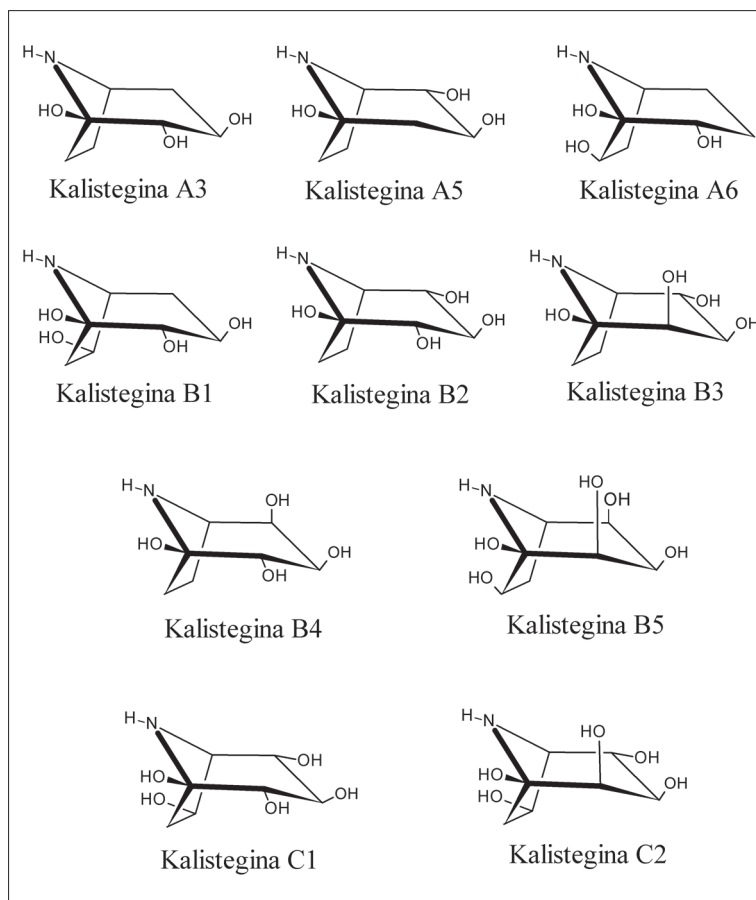
KALISTEGINY

Kalisteginy po raz pierwszy wyizolowano z korzeni włośnikowatych kielisznika zaroślowego (*Calystegia sepium* (L.) R. Br) należącego do powojowatych (*Convolvulaceae*) i temu zawdzięczają swoją nazwę. Występują również w innych roślinach z rodziny *Convolvulaceae*, a także u *Solanaceae*, *Moraceae* (morwowate) i *Brassicaceae* (kapustowate) [13,20,25]. Wszystkie kalisteginy mają szkielet nortropanowy oraz kilka grup hydroksylowych. Dzięki ich obecności kalisteginy są związkami o charakterze hydrofilowym. Liczba grup -OH jest jednym z kryteriów podziału tych związków. Kalisteginy zawierające trzy grupy hydroksylowe zostały zaliczone do kalistegin A, zawierające cztery grupy hydroksylowe to kalisteginy B, oraz pięć grup hydroksylowych – kalisteginy C (ryc. 5).

W obrębie każdej grupy można wyróżnić kilka związków, które różnią się położeniem grup hydroksylowych. Do kalistegin zaliczane są także alkaloidy tropanowe, które mają grupę metylową przyłączoną do atomu azotu, ale tylko wtedy, gdy nie są zestyfikowane. Te kalisteginy nazywano N-metylokalisteginami. U roślin z rodzaju *Physalis* zidentyfikowano kalisteginy A3, A5, B1, B2 i B3. Jednak pod względem zawartości tych związków poszczególne gatunki mogą się różnić zarówno jakościowo, jak i ilościowo (tab. 1).

Kalisteginy są syntetyzowane w korzeniach, a stamtąd mogą być transportowane do nadziemnych części roślin [7]. Ich obecność stwierdzono w liściach i owocach.





Ryc. 5. Struktura chemiczna kalistegin

Tabela 1. Zawartość kalistegin w korzeniach różnych gatunków roślin z rodzaju *Physalis*

Gatunek	Stężenie kalisteginy (µg/g ś.m.)			
	Kalistegina A3	Kalistegina A5	Kalistegina B1	Kalistegina B2
<i>Physalis divaricata</i>	6,990	4,410	8,520	14,700
<i>Physalis peruviana</i>	0,008	–	–	–
<i>Physalis ixocarpa</i>	–	–	–	0,006
<i>Physalis pubescens</i> Miechunka omszona	0,025	–	0,034	0,0008

(według [47], zmodyfikowano).

Największe stężenie tych związków zaobserwowano jednak w korzeniach.

Szlak biosyntezy kalistegin jest zbieżny ze szlakiem, na którym powstają alkaloidy tropanowe i ulega rozgałęzieniu po powstaniu tropinonu, który może być kierowany na szlak prowadzący do powstania alkaloidów tropanowych lub kalistegin z udziałem reduktazy tropinionu II (TRII) przekształcającej tropinę w pseudotropinę (ryc. 4). Dalsze etapy syntezy jak dotąd nie zostały wyjaśnione. Wiadomo

natomiast, że w tym cyklu powstaje kalistegina A3, która następnie może ulegać hydroksylacji do kalisteginy B1 i kalisteginy B2 [43].

Kalisteginy wykazują potencjał allelopatyczny i mogą być aktywnymi składnikami oddziaływać roślin z mikroflorą glebową w obrębie ryzosfery. Eksudaty korzeni zawierające kalisteginy powodowały gromadzenie w ryzosferze bakterii stymulujących wzrost roślin (plant growth promoting rhizobacteria – PGPR) i stanowiły źródło węgla i azotu dla

bakterii glebowych, np. *Rhizobium meliloti*. Wykazano, że bakterie te miały zdolność wzrostu na podłożu z kalisteginami, które nie zawierało żadnych innych źródeł węgla i azotu, co wskazywało na ich zdolność do degradacji kalistegin. Podobne właściwości miały bakterie należące do rodzaju *Pseudomonas* [25,49]. Poza tym kalisteginy wykazywały negatywne działanie allelopatyczne w stosunku do mikroorganizmów, które nie miały zdolności ich metabolizowania, uniemożliwiając im wzrost [49]. Kalisteginy mogą być także wykorzystane w ekologicznych uprawach, bo są deterrentami pokarmowymi dla niektórych szkodników owadzych z rzędu *Lepidoptera* [46].

Aktywność biologiczna kalistegin jest związana również z działaniem hamującym na niektóre hydrolazy glikozydowe i wynika ze strukturalnego podobieństwa kalistegin do monosacharydów. Kalisteginy A2 i B3 selektywnie hamują działanie β -glukozydazy wątroby szczura [2]. Natomiast kalisteginy B1, B2 i C1 są silnymi inhibitorami kompetycyjnymi β -glukozydazy, ale nie hamują α -galaktozydazy [5,37]. Kalisteginy A3, B2, B3 i B4 są inhibitorami trehalaz [37]. Ze względu na te właściwości kalisteginy są potencjalnie toksycznymi składnikami pasz i żywności. U człowieka kalisteginy dostarczane do organizmu wraz z owocami i warzywami mogą wywoływać choroby Gauchera i Fabryego zaliczane do lizosomalnych chorób spichrzeniowych. W badaniach prowadzonych na ludzkich fibroblastach nie wykazano jednak spichrzenia węglowodanów w lizosomach, mimo silnego hamowania aktywności ludzkiej lizosomalnej β -glukozydazy wątroby przez kalisteginy B1 i C1 [4]. Modyfikacje węglowodanów roślinnych, ze względu na ich rolę w żywieniu człowieka i zwierząt oraz zastosowanie przemysłowe, stanowią jeden z ważniejszych

kierunków badań biotechnologii. W tym kontekście zwraca uwagę to, że zmianom w składzie węglowodanów w bulwach transgenicznych ziemniaków z nadekspresją inwertazy z drożdży lub supresją syntazy skrobiowej towarzyszył znaczny wzrost zawartości kalistegin [42], co może zwiększyć niekorzystny wpływ tych metabolitów na organizm człowieka.

PODSUMOWANIE

Metabolity wtórne roślin są substancjami o niezwykle szerokim zakresie działania wynikającym z ich różnicowanej budowy chemicznej. Rodzaj *Physalis* jest bardzo bogatym źródłem metabolitów wtórnych o właściwościach leczniczych. Świadczy o tym to, że rośliny te wykorzystywano przez wieki jako antidotum na wiele chorób w krajach Ameryki Środkowej i Południowej, skąd pochodzą. Badania współczesne nad gatunkami z rodzaju *Physalis* potwierdziły, że ze względu na bogaty i różnorodny skład metabolitów wtórnych mają one duży potencjał leczniczy. Dotychczas poznano właściwości wielu ekstraktów roślin z rodzaju *Physalis*, ale głównym zadaniem badaczy jest wyizolowanie i identyfikacja substancji odpowiedzialnych za określony efekt biologiczny. Mimo wielu związków poznanych, istnieje zapewne jeszcze wiele niezidentyfikowanych. Te, które częściowo zostały przebadane wymagają kolejnych analiz w celu potwierdzenia ich interesujących właściwości w warunkach *in vivo* i w badaniach klinicznych. Szczególne nadzieje związane są z właściwościami przeciwnowotworowymi fizalin. Istotne jest także poznanie szlaków biosyntezy oraz ich modyfikacja w celu jeszcze wydajniejszej produkcji substancji biologicznie aktywnych w różnych systemach, np. roślinnych kulturach bioreaktorowych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abdel-Motaal F.F., El-zayat S.A., Kosaka Y., El-Sayed M.A., Kashima R., Maeda Y., Nassar M.S., Ito S.: Antifungal activities of hyoscyamine and scopolamine against two major rice pathogens: *Magnaporthe oryzae* and *Rhizoctonia solani*. J. Gen. Plant Pathol., 2010; 76: 102–111
- [2] Asano N., Kato A., Kizu H., Matsui K., Griffiths R.C., Jones M.G., Watson A.A., Nash R.J.: Enzymatic synthesis of the glycosides of calystegines B1 and B2 and their glycosidase inhibitory activities. Carbohydr. Res., 1997; 304: 173–178
- [3] Asano N., Kato A., Kizu H., Matsui K., Watson A.A., Nash R.J.: Calystegine B4, a novel trehalase inhibitor from *Scopolia japonica*. Carbohydr. Res., 1996; 293: 195–204
- [4] Asano N., Nash R.J., Molyneux R.J., Fleet G.W.: Sugar mimic glycosidase inhibitors: natural occurrence, biological activity and prospects for therapeutic application. Tetrahedron Asymmetry, 2000; 11: 1645–1680
- [5] Asano N., Oseki K., Tomioka E., Kizu H., Matsui K.: N-containing sugars from *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities. Carbohydr. Res., 1994; 259: 243–255
- [6] Atta-ur-Rahman, Sameen, Atia-tul-Wahab, Choudhary M.I.: Discovery of leishmanicidal agents from medicinal plants. Pure Appl. Chem., 2008; 80: 1783–1790
- [7] Azemi M.E., Mosaddegh M., Cheraghali A.M., Namjooyan F., Dräger B.: Isolation and identification of calystegines in root cultures of four *Physalis* species. Iranian J. Pharm. Res., 2006; 5: 69–72
- [8] Azlan G.J., Marziah M., Radzali M., Johari R.: Establishment of *Physalis minima* hairy roots culture for the production of physalins. Plant Cell Tissue Organ. Cult., 2002; 69: 271–278
- [9] Azlan G.J., Marziah M., Radzali M., Johari R.: Accumulation of physalin in cells and tissues of *Physalis minima* L. Acta Horticulturae, 2005; 676: 53–59
- [10] Bhattacharya S.K., Muruganandam A.V.: Adaptogenic activity of *Withania somnifera*: an experimental study using a rat model of chronic stress. Pharmacol. Biochem. Behav., 2003; 75: 547–555
- [11] Bhattacharya S.K., Satyan K.S., Chakrabarti A.: Effect of Trasina, an Ayurvedic herbal formulation, on pancreatic islet superoxide dismutase activity in hyperglycaemic rats. Indian J. Exp. Biol., 1997; 35: 297–299
- [12] Bonhomme V., Laurain-Mattar D., Lacoux J., Fliniaux M-A., Jacquin-Dubreuil A.: Tropane alkaloid production by hairy roots of *Atropa belladonna* obtained after transformation with *Agrobacterium rhizogenes* 15834 and *Agrobacterium tumefaciens* containing *rol A*, *B*, *C* genes only. J. Biotechnol., 2000; 81: 151–158
- [13] Brock A., Herzfeld T., Paschke R., Koch M., Dräger B.: *Brassicaceae* contain nortropine alkaloids. Phytochemistry, 2006; 67: 2050–2057
- [14] Broda B., Mowszowicz J.: Przewodnik do oznaczania roślin leczniczych, trujących i użytkowych. Wyd. VI, PZWL, Warszawa 2001: 601
- [15] Cantwell M., Flores-Minutti J., Trejo-González A.: Developmental changes and postharvest physiology of tomatillo fruits (*Physalis ixocarpa* Brot.). Sci. Hort., 1992; 50: 59–70
- [16] Castro D.P., Figueiredo M.B., Ribeiro I.M., Tomassini T.C., Azambuja P., Garcia E.S.: Immune depression in *Rhodnius prolixus* by seco-steroids, physalins. J. Insect Physiol., 2008; 54: 555–562
- [17] Chataing B., Hocquette A., Diaz S., Valentin A., Usubillaga A.: Activity of acnistins against *Leishmania mexicana*, *Trypanosoma cruzi* and *Plasmodium falciparum*. Ciencia, 2009; 17: 25–32
- [18] Chiang H.C., Jaw S.M., Chen P.M.: Inhibitory effects of physalin B and physalin F on various human leukemia cells *in vitro*. Anticancer Res., 1992; 12: 1155–1162
- [19] Choudhary M.I., Yousaf S., Ahmed S., Sameen, Yasmeen K., Atta-ur-Rahman: Antileishmanial physalins from *Physalis minima*. Chem. Biodivers., 2005; 2: 1164–1173
- [20] Dräger B.: Chemistry and biology of calystegines. Nat. Prod. Rep., 2004; 21: 211–223
- [21] Dräger B.: Tropinone reductases, enzymes at the branch point of tropane alkaloid metabolism. Phytochemistry, 2006; 67: 327–337



- [22] Eich E.: *Solanaceae* and *Convolvulaceae*: Secondary Metabolites. Wyd. XIV, Berlin, Springer 2008: 153–160
- [23] Griffin W.J., Lin G.D.: Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry*, 2000; 53: 623–637
- [24] Guimarães E.T., Lima M.S., Santos L.A., Ribeiro I.M., Tomassini T.B., Ribeiro dos Santos R., dos Santos W.L., Soares M.B.: Activity of physalins purified from *Physalis angulata* in *in vitro* and *in vivo* models of cutaneous leishmaniasis. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2009; 64: 84–87
- [25] Guntli D., Burgos S., Moëne-Loccoz Y., Défago G.: Calystegine degradation capacities of microbial rhizosphere communities of *Zea mays* (calystegine-negative) and *Calystegia sepium* (calystegine-positive). *FEMS Microbiol. Ecol.*, 1999; 28: 75–84
- [26] Gupta A., Gupta R.: A survey of plants for presence of cholinesterase activity. *Phytochemistry*, 1997; 46: 827–831
- [27] Hasik J.: Postępowanie fitoterapeutyczne w gastroenterologii. *Postępy Fitoter.*, 2000; 2: 2–9
- [28] Jerzykiewicz J.: Alkaloidy roślin z rodziny psiankowatych (*Solanaceae*). *Postępy Biochem.*, 2007; 53: 280–286
- [29] Kohlmünzer S.: *Farmakognozja*. Wyd. V. PZWL, Warszawa 1998: 429–432
- [30] Lan Y.H., Chang F.R., Pan M.J., Wu C.C., Wu S.J., Chen S.L., Wang S.S., Wu M.J., Wu Y.C.: New cytotoxic withanolides from *Physalis peruviana*. *Food Chem.*, 2009; 116: 462–469
- [31] Li Y.Z., Pan Y.M., Huang X.Y., Wang H.S.: Withanolides from *Physalis alkekengi* var. *francheti*. *Helv. Chim. Acta*, 2008; 91: 2284–2291
- [32] Liu T., Zhu P., Cheng K.D., Meng C., He H.X.: Molecular cloning, expression and characterization of hyoscyamine 6 β -hydroxylase from hairy roots of *Anisodus tanguticus*. *Planta Med.*, 2005; 71: 249–253
- [33] Lusakibanza M., Mesia G., Tona G., Karemere S., Lukuka A., Tits M., Angenot L., Frédérick M.: *In vitro* and *in vivo* antimalarial and cytotoxic activity of five plants used in congolese traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.*, 2010; 129: 398–402
- [34] Makino B., Kawai T., Ogura T., Nakanishi M., Yamamura H., Butsugan Y.: Structural revision of physalin isolated from *Physalis angulata*. *J. Nat. Prod.*, 1995; 58: 1668–1674
- [35] Matławska I.: *Farmakognozja*. Wyd. II. Poznań. Wyd. Akad. Med., 2006: 253
- [36] Mirjalili M.H., Moyano E., Bonfill M., Cusido R.M., Palazón J.: Steroidal lactones from *Withania somnifera*, an ancient plant for novel medicine. *Molecules*, 2009; 14: 2373–2393
- [37] Molyneux R.J., Pan Y.T., Goldmann A., Tepfer D.A., Elbein A.D.: Calystegins, a novel class of alkaloid glycosidase inhibitors. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1993; 304: 81–88
- [38] Pérez-Castorena A.L., García M., Martínez M., Maldonado E.: Physalins from *Physalis solanaceus*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 2004; 32: 1231–1234
- [39] Pietro R.C., Kashima S., Sato D.N., Januário A.H., Franca S.C.: *In vitro* antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. *Phytomedicine*, 2000; 7: 335–338
- [40] Pinto N.B., Morais T.C., Carvalho K.M., Silva C.R., Andrade G.M., Brito G.A., Veras M.L., Pessoa O.D., Rao V.S., Santos F.A.: Topical anti-inflammatory potential of physalin E from *Physalis angulata* on experimental dermatitis in mice. *Phytomedicine*, 2010; 17: 740–743
- [41] Pitta-Alvarez S.I., Spollansky T.C., Giulietti A.M.: The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*. *Enzyme Microb. Technol.*, 2000; 26: 252–258
- [42] Richter U., Sonnwald U., Dräger B.: Calystegines in potatoes with genetically engineered carbohydrate metabolism. *J. Exp. Bot.*, 2007; 58: 1603–1615
- [43] Scholl Y., Höke D., Dräger B.: Calystegines in *Calystegia sepium* derive from the tropane alkaloid pathway. *Phytochemistry*, 2001; 58: 883–889
- [44] Shariff N., Sudarshana M.S., Umesha S., Hariprasad P.: Antimicrobial activity of *Rauvolfia tetraphylla* and *Physalis minima* leaf and callus extracts. *Afr. J. Biotechnol.*, 2006; 10: 946–950
- [45] Silva M.T., Simas S.M., Batista T.G., Cardarelli P., Tomassini T.C.: Studies on antimicrobial activity, *in vitro*, of *Physalis angulata* L. (*Solanaceae*) fraction and physalin B bringing out the importance of assay determination. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2005; 100: 779–782
- [46] Simmonds M.S., Blaney W.M., Fellows L.E.: Behavioral and electrophysiological study of antifeedant mechanisms associated with polyhydroxy alkaloids. *J. Chem. Ecol.*, 1990; 16: 3167–3196
- [47] Soares M.B., Bellintani M.C., Ribeiro I.M., Tomassini T.C., Ribeiro dos Santos R.: Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-steroids purified from *Physalis angulata* L. *Eur. J. Pharmacol.*, 2003; 459: 107–112
- [48] Soares M.B., Brustolima D., Santos L.A., Bellintani M.C., Paiva F.P., Ribeiro Y.M., Tomassini T.C., Ribeiro Dos Santos R.: Physalins B, F and G, seco-steroids purified from *Physalis angulata* L., inhibit lymphocyte function and allogeneic transplant rejection. *Int. Immunopharmacol.*, 2006; 6: 408–414
- [49] Tepfer D., Goldmann A., Pamboukdjian N., Maille M., Lepingle A., Chevalier D., Dénarié J., Rosenberg C.: A plasmid of *Rhizobium meliloti* 41 encodes catabolism of two compounds from root exudate of *Calystegium sepium*. *J. Bacteriol.*, 1988; 170: 1153–1161
- [50] Tohda C., Kuboyama T., Komatsu K.: Search for natural products related to regeneration of the neuronal network. *Neurosignals*, 2005; 14: 34–45
- [51] Tomassini T.C., Barbi N.S., Ribeiro I.M., Xavier D.C.: Gênero *Physalis* – Uma revisão sobre viterosteróides. *Quím. Nova*, 2000; 23: 47–57
- [52] Trigo J.R., Brown K.S.Jr, Henriques S.A., Barata L.E.: Qualitative patterns of pyrrolizidine alkaloids in *Ithomiinae* butterflies. *Biochem. Syst. Ecol.*, 1996; 24: 181–188
- [53] Vandenberghe I., Créancier L., Vispé S., Annereau J.P., Barret J.M., Pouny I., Samson A., Aussagues Y., Massiot G., Ausseil F., Bailly C., Kruczynski A.: Physalin B, a novel inhibitor of the ubiquitin-proteasome pathway, triggers NOXA-associated apoptosis. *Biochem. Pharmacol.*, 2008; 76: 453–462
- [54] Wilhelm H., Wilhelm B., Schiefer U.: Mydriasis caused by plant contact. *Fortschr. Ophthalmol.*, 1991; 88: 588–591
- [55] Wu S.J., Ng L.T., Lin D.L., Huang S.N., Wang S.S., Lin C.C.: *Physalis peruviana* extract induces apoptosis in human Hep G2 cells through CD95/CD95L system and the mitochondrial signaling transduction pathway. *Cancer Lett.*, 2004; 215: 199–208
- [56] Yu Y., Sun L., Ma L., Li J., Hu L., Liu J.: Investigation of the immunosuppressive activity of Physalin H on T lymphocytes. *Int. Immunopharmacol.*, 2010; 10: 290–297

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.