

van den Berg F., Hong Y.-S., Lee C.-H., 2009, Metabolomic Studies on Geographical Grapes and Their Wines Using ^1H NMR Analysis Coupled with Multivariate Statistics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1481 – 1490.

[11] Garcia J. S., Vaz B. G., Corilo Y. E., Ramires C. F., Saraiva S. A., Sanvido G. B., Schmidt E. M., Maia D. R. J., Cosso R. G., Zacca J. J., Nogueira Eberlin M., 2013, Whisky analysis by electrospray

ionization-Fourier transform mass spectrometry, *Food Research International*, 51, 98 – 106.

[12] Smeyers-Verbeke J., Jäger H., Lanteri S., Brereton P., Jamin E., Faul-Hassek C., Forina M., Römisch U., 2009, Characterization and determination of the geographical origin of wines. Part II: descriptive and inductive univariate statistics, *European Food Research and Technology*, 230, 15 – 29. ●

Justyna Krych-Madej

justyna.krych@gmail.com

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej,

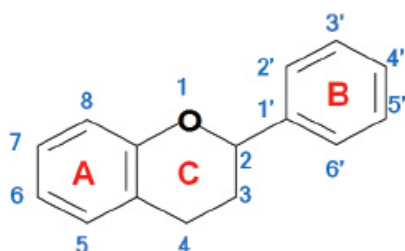
Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka

Flawonoidy – przyjaciele, czy wrogowie?

Jabłka, herbata, gorzka czekolada, winogrona... Co łączy te wszystkie produkty? Wszystkie bogate są w witaminy. Wszystkie po spożyciu poprawiają nam humor. Wszystkie... są źródłem flawonoidów. Flawonoidów, które coraz częściej „pojawiają się” na opakowaniach kremów, w składzie tabletek wzmacniających odporność, „uśmiechają się” do nas w reklamach. Ale czym tak naprawdę są flawonoidy i czy rzeczywiście są nam potrzebne?

Flawonoidy – charakterystyka ogólna

Flawonoidy to polifenolowe związki chemiczne pochodzenia roślinnego, których struktura oparta jest na szkieletie flawonu (*Rysunek 1*). Ich nazwa pochodzi od łacińskiego słowa *flavus*, czyli żółty. Flawonoidy gromadzą się w liściach, owocach, kwiatach i nasionach roślin nadają im barwę, chronią je przed szkodliwym działaniem promieniowania ultrafioletowego, grzybów i owadów, pełnią funkcje regulatorów wzrostu oraz hormonów [1].



Rysunek 1. Wzór ogólny flawonoidów, układ $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$ – flawon

Obecnie znanych jest już ponad 9000 różnych flawonoidów, a liczba ta ciągle rośnie [2]. Ta ogromna różno-

rodność wynika z faktu, iż atomy węgla pierścieni A, B i C ulegać mogą różnym modyfikacjom, m.in. hydroksylacji, metoksylacji oraz glikozylacji za pomocą mono- i oligosacharydów. Sacharydy przyłączane są zwykle w pozycji C_3 , rzadziej C_4 , C_5 oraz C_7 . Najpopularniejszym glikozydem wśród flawonoidów jest glikozyd kwercetyny – rutyna, związek dość powszechnie wykorzystywany jako składnik leków i suplementów diety wspomagających odporność. Na podstawie różnic strukturalnych flawonoidy podzielono na sześć grup: flawony, flawonole, flawanony, flawanole, izoflawony i antocyjany.

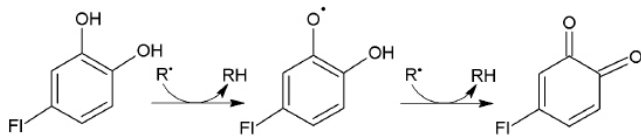
Flawonoidy to naturalny składnik naszej diety. Ich dzienne spożycie waha się od kilkuset miligramów do 1 – 2 gramów, w zależności od nawyków żywieniowych [2]. Głównymi źródłami flawonoidów w diecie Polaków są jabłka, herbata i cebula [3].

Flawonoidy – nasi przyjaciele

Flawonoidy znane są głównie ze swej aktywności antyoksydacyjnej, dzięki której wykazują szereg korzystnych dla naszego zdrowia właściwości. Dane literaturowe donoszą m.in. o aktywności przeciwzapalnej, przeciwalergicznej, ochronnej w stosunku do układu krwionośnego, a nawet przeciwnowotworowej flawonoidów [1].

Do głównych mechanizmów antyoksydacyjnych, w które zaangażowane są flawonoidy, zaliczyć należy: bezpośrednie zmiatanie wolnych rodników, chelatowanie jonów metali przejściowych oraz aktywację enzymów II fazy – detoksykacji (m.in. oksydazy NAD(P)H (akceptor chinonowy), która chroni organizm przed ksenobiotykami elektrofilowymi).

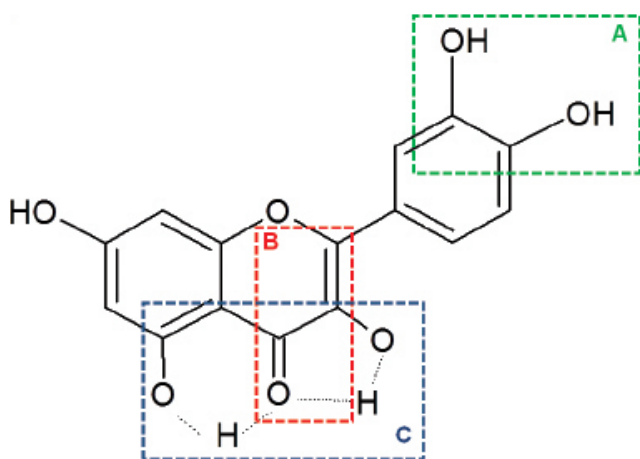
Spośród wymienionych mechanizmów bezpośrednie zmiatanie wolnych rodników wymieniane jest najczęściej, zarówno w spotach reklamowych, jak i w literaturze (popularno) naukowej. Ogólny mechanizm zmiatania wolnych rodników (R^\bullet) przez flawonoidy przedstawia Rysunek 2.



Rysunek 2. Mechanizm zmiatania wolnych rodników przez flawonoidy

Aktywność antyoksydacyjna flawonoidów uzależniona jest od liczby i przestrzennego ułożenia grup funkcyjnych w obrębie cząsteczki. Najważniejsze elementy strukturalne zapewniające efektywne zmiatanie wolnych rodników to [4]:

- grupa *orto*-dihydroksylowa (katecholowa) w strukturze pierścienia B, zapewniająca delokalizację elektronów, Rysunek 3A;
- $C_2 = C_3$ wiązanie podwójne w obrębie pierścienia C sprzężone z ugrupowaniem 4-ketonowym, zapewniające delokalizację elektronów z pierścienia B, Rysunek 3B;
- grupy hydroksylowe w pozycjach C_3 i C_5 pierścienia A i C tworzące wiązania wodorowe z ugrupowaniem 4-ketonowym, Rysunek 3C.



Rysunek 3. Elementy strukturalne flawonoidów zapewniające efektywne zmiatanie wolnych rodników

Flawonoidy – nasi wrogowie?

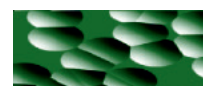
Pomimo wielu korzystnych dla zdrowia właściwości, w pewnych specyficznych warunkach, m.in. podczas wzmózonej suplementacji, flawonoidy mogą działać jak

prooksydanty, a więc przyczyniać się do utleniania innych cząsteczek. Aktywność prooksydacyjną flawonoidów w bezpośredni sposób powiązać można z liczbą grup hydroksylowych w cząsteczce. Mono- i dihydroksylowe flawonoidy zwykle nie wykazują takiej aktywności, podczas gdy w przypadku związków polihydroksylowych (zwłaszcza, gdy grupy OH przyłączone są do pierścienia B) obserwuje się znaczący wzrost produkcji reaktywnych form tlenu (RFT). Inne elementy strukturalne flawonoidów sprzyjające ich aktywności prooksydacyjnej to: wiązanie podwójne $C_2 = C_3$ i ugrupowanie 4-ketonowe [5]. A więc, paradoksalnie, są to te same elementy strukturalne, które sprzyjają aktywności antyoksydacyjnej flawonoidów.

Tak, jak aktywność antyoksydacyjna, tak i aktywność prooksydacyjna związana jest z kilkoma mechanizmami działania flawonoidów. Do najistotniejszych zaliczyć należy: generowanie RFT, inhibicję enzymów antyoksydacyjnych, oddziaływanie z innymi antyoksydantami niskocząsteczkowymi (flawonoidy utleniają zarówno kwas askorbinowy, NADH, jak i glutation [6] oraz uszkodzenia DNA [7].

Podczas zmiatania wolnych rodników flawonoidy ulegają utlenieniu do wysoce reaktywnego rodnika semichinonowego, który w kolejnym etapie utleniany jest do chinonu (Rysunek 2). W przypadku, gdy powyższa reakcja przebiega w obecności tlenu i jonów metali przejściowych o dużym stężeniu, obok chinonu powstaje także anionorodnik ponadtlenkowy ($O_2^{\bullet-}$), co przyczynia się do wzrostu stresu oksydacyjnego (zaburzenia równowagi antyoksydacyjno-prooksydacyjnej w kierunku reakcji utleniania) w organizmie [4]. Źródłem rodnika semichinonowego jest nie tylko aktywność antyoksydacyjna, ale także inhibicja peroksydacji lipidów [8], utlenianie przez peroksydazy [9] oraz autoutlenianie flawonoidów.

Proces autoutleniania jest szczególnie istotny w przypadku flawonoidów polihydroksylowych, zwłaszcza, gdy grupy OH występują w pierścieniu B. Podczas autoutleniania flawonoidów generowany jest nie tylko $O_2^{\bullet-}$, ale także inna niebezpieczna RFT: nadtlenuk wodoru, H_2O_2 . Zauważono, że trzymanie w ustach przez dłuższy czas lub żucie zielonej herbaty prowadzi do powstawania znacznych ilości H_2O_2 . Fakt ten powiązano ze składem zielonej herbaty, a zwłaszcza z dużą zawartością flawanoli, głównie galusanu epigalokatechiny (EGCG) i katechiny [10]. Badania przeprowadzone w naszym Zespole wykazały, że o ile rutyna praktycznie nie ulega autoutlenieniu w pH 7,0, o tyle inni znani przedstawiciele flawonoli: kwercetyna i mirycetyna już tak. Podczas autoutleniania 25 μ M kwercetyny H_2O_2 generowany jest z szybkością 20 nM/min, a podczas autoutleniania 25 μ M



mirycetyny 100 nM/min [11]. Badania te potwierdziły istotną rolę podstawienia pierścienia B (związki te różnią się obecnością jednej grupy OH) w procesie autoutleniania flawonoidów.

Co ciekawe, generowanie H_2O_2 nie zawsze musi pociągać za sobą jedynie negatywne skutki. Zauważono, że H_2O_2 powstający podczas utleniania EGCG przyczynia się do zahamowania wzrostu komórek nowotworu jajników. Dodatkowo w obecności EGCG wzrasta od 3- do 6-krotnie toksyczność cisplatyny, popularnego leku przeciwnowotworowego [12]. Badania przeprowadzone na linii komórkowej raka jamy ustnej wykazały, że EGCG wywołuje toksyczny efekt jedynie względem komórek nowotworowych, nie wpływając jednocześnie na żywotność komórek zdrowych [13].

Kolejnym istotnym mechanizmem prooksydacyjnym jest inhibicja enzymów antyoksydacyjnych. Moryna i naringenina są inhibitorami reduktazy glutationowej, enzymu katalizującego redukcję utlenionego glutationu, GSSG, w obecności NADPH [14]. Badania przeprowadzone w naszym Zespole wykazały, że flawonoidy są inhibitorami katalazy, enzymu odpowiedzialnego za rozkład H_2O_2 do wody i tlenu cząsteczkowego. Najsilniejszymi inhibitorami katalazy, spośród badanych związków, są: mirycetyna, galusan epikatechiny, EGCG i kwercetyna. Najważniejsze elementy strukturalne flawonoidów, dzięki którym są one silnymi inhibitorami katalazy to: reszta kwasu galusowego w pozycji C_3 , ugrupowanie hydroksylowe w pozycjach C_3 i C_5 , oraz wiązanie podwójne $C_2 = C_3$. Glikozylacja w pozycji C_3 i uwodornienie wiązania podwójnego $C_2 = C_3$ to z kolei główne czynniki wpływające na obniżenie inhibicyjnego potencjału flawonoidów. Flawonoidy wiążą się (głównie za pomocą wiązań wodorowych) z aminokwasami znajdującymi się na powierzchni katalazy, co powoduje zmiany w strukturze trzeciorzędowej enzymu, utrudniające wiązanie H_2O_2 z centrum hemowym (centrum aktywnym) katalazy. Flawonoidy nie tylko utrudniają wiązanie substratu z katalazą, ale także redukują produkt pośredni reakcji katalitycznej katalazy, Związek I, do nieaktywnego Związku II, co dodatkowo przyczynia się do inhibicji enzymu [11, 15].

Przyjaciele, czy wrogowie?

Wzrastające spożycie produktów zawierających flawonoidy, również w postaci tzw. suplementów diety, pociąga za sobą konieczność szczegółowego poznania oddziaływań flawonoidów z biologicznie ważnymi cząsteczkami, takimi

jak białka, kwasy nukleinowe i lipidy. Choć korzystna dla naszego zdrowia aktywność antyoksydacyjna flawonoidów jest bezsprzeczna, nie możemy zapominać o ich aktywności prooksydacyjnej (która w pewnych warunkach może być pożądana). Tak więc, parafrazując klasyka, jeść, czy nie jeść – oto jest pytanie, oczywiście jeść, pamiętając o tym, że zasada „złotego środka” zawsze była, jest i będzie najlepszym rozwiązaniem, także w tym przypadku.

Literatura

- [1] Cook N., Samman S., 1996, Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, *J. Nutr. Biochem.*, 7, 66-76.
- [2] Havsteen B., 2002, The biochemistry and medical significance of the flavonoids, *Pharmacol. Ther.*, 96, 67-202.
- [3] Majewska M., Czczot H., 2009, Flawonoidy w profilaktyce i terapii, *Terapia i leki*, 65, 369-376.
- [4] Pietta P.-G., 2000, Flavonoids as antioxidants, *J. Nat. Prod.*, 63, 1035-1042.
- [5] Heim K., Tagliaferro A., Bobilya D., 2002, Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationship, *J. Nutr. Biochem.*, 13, 572-584.
- [6] Chan T., Galati G., O'Brien P., 1999, Oxygen activation during peroxidase catalysed metabolism of flavones and flavanones, *Chem.-Biol. Interact.*, 122, 15-25.
- [7] Ohashi Y., Yoshinaga K., Yoshioka H., Yoshioka H., 1998, Kinetic analysis of the effects of (-)-epigallocatechin gallate on the DNA strand scission induced by Fe(II), *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66, 770-776.
- [8] Galleano M., Verstraeten S., Oteiza P., Fraga C., 2010, Antioxidant actions of flavonoids: thermodynamic and kinetic analysis, *Arch. Biochem. Biophys.*, 501, 23-30.
- [9] Awad H., Boersma M., Vervoort J., Rietjens M., 2000, Peroxidase-catalyzed formation of quercetin quinone methide-glutathione adducts, *Arch. Biochem. Biophys.*, 378, 224-233.
- [10] Lambert J., Kwon S., Hong J., Yang C., 2007, Salivary hydrogen peroxide produced by holding or chewing green tea in the oral cavity, *Free Radical Res.*, 41, 850-853.
- [11] Krych J., Gebicki J.L., Gebicka L., 2014, Flavonoid-induced conversion of catalase to its inactive form – Compound II, *Free Radical Res.*, 48, 1334-1341.
- [12] Chan M., Soprano K., Weinstein K., Fong D., 2006, Epigallocatechin-3-gallate delivers hydrogen peroxide to induce death of ovarian cancer cells and enhances their cisplatin susceptibility, *J. Cell Physiol.*, 207, 389-396.
- [13] Yamamoto T., Lewis J., Wataha J. i in., 2004, Roles of catalase and H_2O_2 in green tea polyphenol-induced chemopreventive effects. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 308, 317-323.
- [14] Yen G., Duh P., Tsai H., Huang S., 2003, Pro-oxidative properties of flavonoids in human lymphocytes, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67, 1215-1222.
- [15] Krych J., Gebicka L., 2013, Catalase is inhibited by flavonoids, *Int. J. Biol. Macromol.*, 58, 148-153.