

Stručný úvod do problematiky obsahových látek řas a sinic – důkazy o výskytu fenolických metabolitů

VACEK J.¹, ŠNÓBLOVÁ M.², KLEJDUS B.²

¹Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta, Ústav lékařské chemie a biochemie

²Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Ústav chemie a biochemie

Došlo 26. května 2009 / Přijato 15. června 2009

SOUHRN

Stručný úvod do problematiky obsahových látek řas a sinic – důkazy o výskytu fenolických metabolitů

Řasy a sinice představují skupinu fotosyntetizujících organismů, které se významně podílejí na primární produkci planety. Mnohé z obsahových látek řas jsou využívány a testovány v biotechnologických postupech a farmaceutickém nebo potravinářském průmyslu. Jde převážně o fykolooidy a vybrané nízkomolekulární produkty metabolismu, jako jsou vitaminy, glykosidy, toxiny nebo fotosyntetické pigmenty. Mnohé z těchto látek vykazují antioxidační, antimikrobiální, virostatické nebo protirakovinné účinky, a je proto diskutována jejich využitelnost ve farmakochemickém a biomedicínském výzkumu a vývoji. V předkládaném textu jsou ve stručnosti uvedeny významné obsahové látky řas a nové poznatky týkající se výskytu fenolických sloučenin v řasách a sinicích.

Klíčová slova: řasy – sinice – metabolity – fenoly

Čes. a slov. Farm., 2009; 58, 103–108

SUMMARY

A short introduction to algal and cyanobacterial constituents – the occurrence of phenolic metabolites

Algae and cyanobacteria belong to photosynthetic organisms responsible for primary production of the Earth. Algae are able to synthesize different compounds (phycocolloids and low-molecular metabolites, such as vitamins, glycosides, toxins, and photosynthetic pigments) which are applied and tested in biotechnology, pharmacy, and food industry. Many of algal metabolites are antioxidants and/or antimicrobial agents and therefore the application of these metabolites in pharmaceutical and biomedical research and development is discussed. In the present review, the compounds important for chemical industry and basic algal phenolic metabolites are described.

Key words: algae – cyanobacteria – metabolites – phenols

Čes. a slov. Farm., 2009; 58, 103–108

Má

Úvod

Řasy společně se sinicemi patří mezi vývojově nejstarší fotosyntetizující organismy, které se vyskytují ve sladkovodním, brakickém i oceánském prostředí. Vzhledem k tomu, že některé druhy řas řadíme mezi

extremofilní druhy¹⁾, lze v jejich metabolismu identifikovat metabolické dráhy, jejichž produkty umožňují přežít v nehostinném prostředí horských vřidel, na povrchu krystalků ledu nebo v jiných hraničních podmínkách. Produkty těchto metabolických drah se obvykle v jiných přírodních zdrojích nevyskytují a mohou

Adresa pro korespondenci:

prof. RNDr. Bořivoj Klejdus, Ph.D.

Ústav chemie a biochemie

Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně

Zemědělská 1, 613 00 Brno

e-mail: klejdusb@seznam.cz

být uplatněny ve farmacii, potravinářství a biomedicín-
ských oborech.

Z potravinářského hlediska jsou řasy v případě Evrop-
ského kontinentu využívány jako potravinové doplňky
a nejinak je tomu v západních rozvinutých ekonomikách,
jako je USA. Naproti tomu v asijských státech (Japon-
sko, Čína, Korea) představují řasy nemalý podíl surovin
běžně používaných pro přípravu potravin, konzumují se
zde pokrmy připravené z řas rodu *Laminaria*, *Undaria*,
Glacillaria, *Euchema* a další ²⁾.

Řasy obsahují velké množství různých primárních
a sekundárních metabolitů, z nichž mnohé mají antioxi-
dační vlastnosti nebo vykazují jiné fyziologické účinky
na zdraví savců včetně člověka. Původně byly průmyslo-
vě využívány pouze stélkaté řasy, avšak s rozvojem
nových flokulačních, filtračních a extrakčních postupů
docházelo a dochází k intenzivnímu využití i mikrosko-
pických druhů řas, jako jsou zástupci rodu *Chlorella*
a *Spirulina* ³⁾. Z ekonomického hlediska představují
významnou skupinu látek fykokoloidy, o kterých bude
pojednáno v následujícím odstavci.

Chemické složení a průmyslově využívané obsahové látky

Bylo prokázáno, že řasy obsahují velké množství bíl-
kovin a nízký obsah tuků. Řada odborníků v potravinář-
ském průmyslu považovala produkty z řas jako výcho-
disko z potravinové krize, která postihla mnohé africké
i asijské rozvojové země. Nutno podotknout, že některé
druhy řas jsou také typické tím, že obsahují značné
množství nukleových kyselin, které jsou u savců katabo-
lizovány na kyselinu močovou. Její nadbytek může před-
stavovat pro organismus zátěž. Už z tohoto hlediska jsou
mnohé druhy řas předurčeny pro využití ve formě potra-
vinových doplňků nebo doplňků krmiv pro hospodářská
zvířata. U zástupců rodu *Chlorella* se na základě výše
uvedeného nedoporučuje denní příjem více jak 40 g suši-
ny na osobu ^{2, 4)}.

Obsahové látky řas jsou intenzivně využívány v prů-
myslu. Asi největší uplatnění našly fykokoloidy, jako
jsou kyselina alginová a algináty produkované mořskými
chaluhami. Ty jsou využívány jako emulgační
činitel a gelové roztoky. Podobné využití také nalézá
tzv. karagenan v případě ruduch nebo známý agar
(galaktosový polymer), který je hojně využíván
v potravinářském, farmaceutickém a obecně chemic-
kém průmyslu ^{5, 6)}.

Kromě výše uvedeného představují řasy významný
zdroj vitaminů, antioxidantů, polyketidů, nenasycených
mastných kyselin a přírodních barviv (fotosyntetických
pigmentů). V případě vitaminů se jedná o zástupce sku-
piny B, vitamin H (biotin), vitamin C (kyselina L-askor-
bová) nebo provitamin A (β -karoten). Řasy obecně pro-
dukují značné množství karotenoidů (významné
antioxidanty) a jsou považovány za významný zdroj
chlorofylů, minerálních látek a vlákniny. Z minerálních
látek se jedná především o jod, selen nebo chrom ⁷⁾.
Detailní informace o ekonomicky významných obsaho-
vých látkách řas, popřípadě i sinic, je množné nalézt
v recentních přehledech ^{4-6, 8-10)}.

Toxické metabolity

U mnohých výše uvedených metabolitů byl prokázán
antibakteriální, antivirový nebo i protinádorový účinek ⁴⁾
(tab. 1). Kromě zdraví prospěšných látek byly u řas
a sinic nalezeny toxické sloučeniny, které bývají nazývá-
ny jako fykotoxiny ⁹⁻¹¹⁾. Jde o látky, které jsou minimál-
ně toxické vůči svým producentům, ale vyznačují se
vysokou toxicitou vůči ostatním organismům vyskytují-
cích se v lokalitě výskytu řas nebo sinic.

Řasy a sinice vyměšují tyto sloučeniny do vodního
prostředí, a zabraňují tak jeho kolonizaci jinými dru-
hy. Tyto látky (často se jedná o aldehydy, deriváty
aminokyselin a lineární nebo cyklické peptidy) byly
identifikovány především u sinic, a to jak u sladko-
vodních, tak i u mořských zástupců ¹¹⁻¹²⁾. Jedná se
o alelopatika a toxiny, jako jsou cyanobakterin, fis-
chelerin A, nostocin A, kyselina domoová, anatoxin A,
homoanatoxin A, muskorid A, mikrocytiny a saxito-
xiny. Účinek těchto látek je založen na blokování
důležitých metabolických pochodů, jako jsou inhibice
enzymového aparátu, syntézy nukleových kyselin,
generování vysoce toxických reaktivních forem kyslí-
ku nebo zablokování fotosyntézy. Toxiny obsažené ve
fytoplanktonu, kterým se živí ryby nebo jiní vodní
živočichové, se mohou potravním řetězcem dostat i do
potravy člověka, a způsobit tak závažné otravy, které
jsou nejčastěji založeny na jejich neurotoxickém účin-
ku ¹¹⁾. V rámci distribuce toxických metabolitů je nut-
né podotknout, že popsané toxiny se v potravinářsky
využívaných řasách nevyskytují nebo se vyskytují ve
stopovém množství. Naopak v případě sinic kolonizu-
jících vodní toky a nádrže mohou tyto látky předsta-
vovat závažné hygienické riziko.

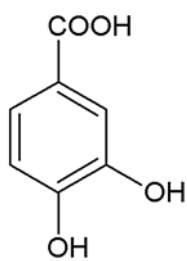
Tab. 1. Vybrané skupiny obsahových látek řas a jejich možný účinek na zdraví člověka

Obsahová látka*	Fyziologický účinek
kyselina alginová, xylofukany	antivirová aktivita
α -tokoferol, fenolické látky	antioxidační účinek
polynenasycené mastné kyseliny, steroly	redukce hladiny cholesterolu
foláty, porfyriny	zabránění vzniku rakoviny, protinádorový účinek

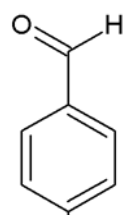
* Uvedené látky byly identifikovány v následujících druzích: *Sargassum vulgare*, *Undaria pinnatifida*, *Ulva* spp., *Chondrus crispus*, *Porphyra* spp., *Cystoseira* spp.

Fenolické sloučeniny a jejich deriváty

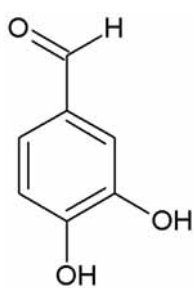
Stanovení fenolických látek v řasách a sinicích se věnovala řada autorů. Většina z nich použila k analýzám spektrofotometrické Folin-Ciocalteovo stanovení, které poskytuje informaci o celkovém zastoupení fenolických látek ve zkoumaném materiálu, např. v případě sinice *Nostoc commune*¹³⁾. K detailnějšímu popisu fenolů řas je aplikována kapalinová chromatografie (HPLC nejčastěji na reverzní stacionární fázi) v kombinaci s hmotnostními detektory (MS) nebo nukleární magnetickou rezonancí (NMR) a široké spektrum extrakčních postu-



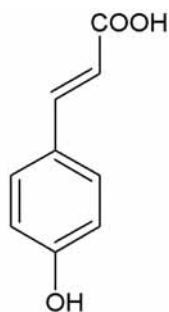
I



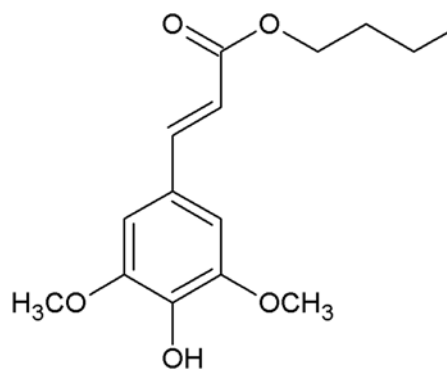
II



III

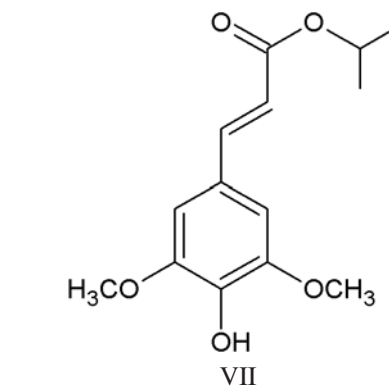


IV

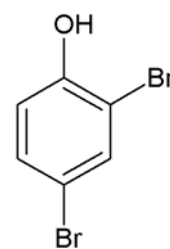


V

VI

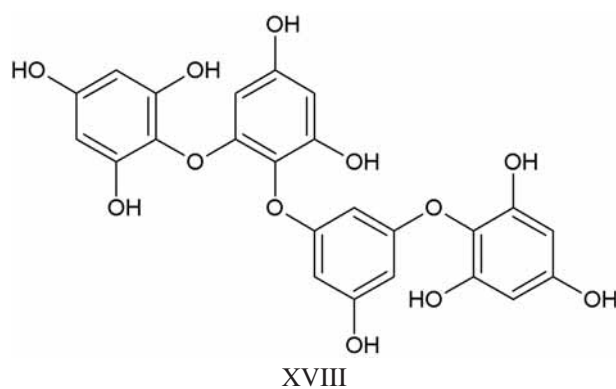
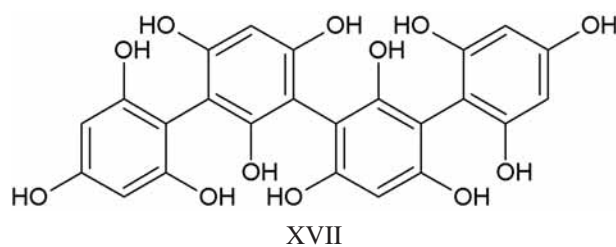
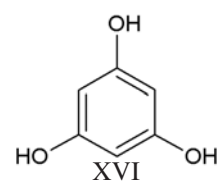
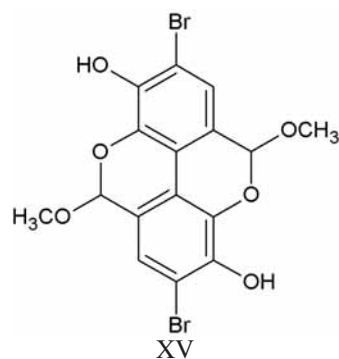
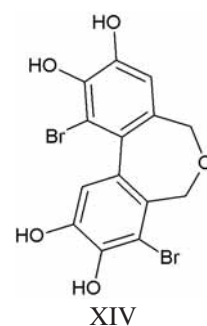
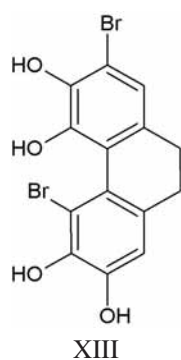
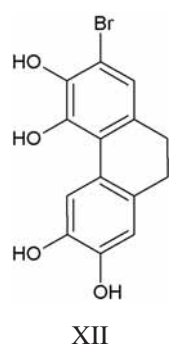
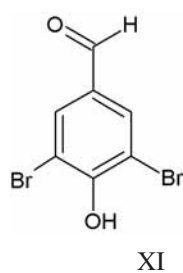
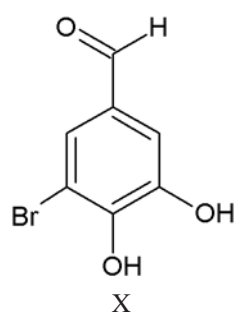
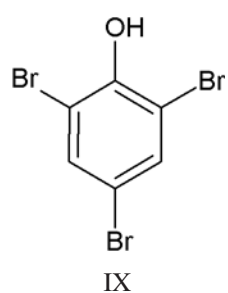


VII



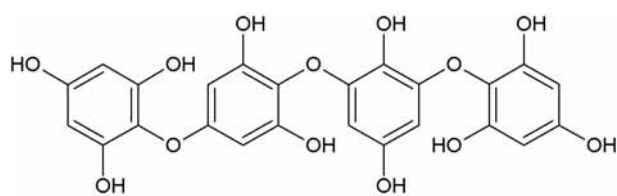
VIII

pů¹⁴⁻¹⁶⁾. Předpokládá se, že řasy syntetizují fenoly z podobných důvodů, jako je tomu u vyšších rostlin. Fenolické látky obsažené ve vyšších rostlinách plní ochranou funkci před patogeny a funkci signálních molekul při jejich napadení herbivorními škůdci¹⁷⁾. Obecně lze rozdělit fenolické látky řas a sinic do dvou

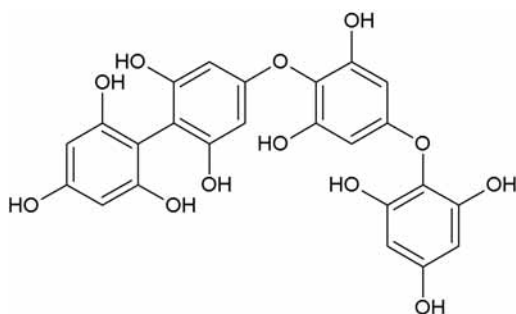


skupin. Do první skupiny spadají monomerní fenoly, které jsou většinou odvozené od samotného fenolu, což jsou obvykle jednoduché fenoly obsahující ve své molekule pouze jednu hydroxylovou skupinu, nebo fenolické

kyseliny a jejich hydroxyderiváty. Ty jsou obvykle řazeny mezi polyfenolické látky, jejichž molekuly obsahují více hydroxylových skupin. Do druhé skupiny patří výhradně polyfenoly tvořené kovalentně propojenými floroglucinoly (1,3,5-trihydroxybenzeny), které vytvářejí oligomerní a polymerní struktury obecně nazývané flortaniny.



XIX



XX

V případě monomerních fenolů byly v řase *Spongiochloris spongiosa* a v zástupcích sladkovodních sinic nalezeny hydroxyderiváty kyseliny benzoové, často odvozené od kyseliny protokatechové (kyselina 3,4-dihydroxybenzoová) (I) a vybrané hydroxyderiváty benzaldehydů, 4-hydroxybenzaldehyd (II) a 3,4-dihydroxybenzaldehyd (III) ¹⁸. Kromě jednoduchých fenolů a monomerních polyfenolů vycházejících z kyseliny benzoové byly v mořských (*Undaria pinnatifida*, *Hizikia fusiformes*) a sladkovodních řasách objeveny hydroxyderiváty kyseliny skořicové, jako je kyselina *p*-kumarová (kyselina 4-hydroxyskořicová) (IV) ¹⁹ a její estery. Uvedené látky byly izolovány pomocí optimalizovaných extrakčních postupů a analyzovány metodou HPLC-MS ^{18, 19}.

Z esterů kyseliny benzoové a skořicové je znám methylester kyseliny 3,4,5-trihydroxybenzoové (V), *n*-butylester a isopropylester kyseliny 3,5-dimetoxy-4-hydroxyskořicové (VI, VII). Tyto látky byly identifikovány pomocí ¹H- a ¹³C-NMR v hnědé řase *Spatoglossum variabile* ²⁰. Z dalších látek byly studovány halogenderiváty a sírné deriváty fenolů ²¹. Z halogenderivátů převládají bromované fenoly, jako jsou 2,4-dibromfenol (VIII), 2,4,6-tribromfenol (IX) a vybrané hydroxybenzaldehydy (X, XI). V červené mořské řase *Polysiphonia urceolata* byly nalezeny i složitější struktury fenantrenu, 7-brom-9,10-dihydrofenantren-2, 3, 5, 6-tetraol (XII), 4,7-dibrom-9,10-dihydrofenantren-2,3,5,6-tetraol (XIII) a aromatické hydroxyderiváty, 1,8-dibrom-5,7-dihydrodibenzo[*c,e*]oxepin-2,3,9,10-tetraol (XIV), urceolatol (XV) ²². Sírných derivátů jednoduchých fenolů a polyfenolů bylo u řas prokázáno výrazně méně nežli halogenderivátů, mezi ty nejznámější patří vidalol A izolovaný z řasy *Vidalia obtusiloba* nebo některé sírné deriváty odvozené od fenolu nebo jeho oligomerů ^{21, 23}.

Mezi farmaceuticky a potravinářsky zajímavou skupinu přírodních fenolů patří flavonoidy, mezi něž řadíme isoflavonoidy, které jsou označovány jako rostlinné estrogény (fytoestrogény). Tyto látky se běžně vyskytují

v pletivech vyšších rostlin (např. v sóji), konkrétní flavonoidy nebo podobné polyfenoly však nebyly v řasách ani sinicích identifikovány. Nicméně na základě nedávno provedených spektrometrických analýz v extraktech řasy *Spirulina platensis* ²⁴ byla prokázána přítomnost látek s flavonoidním skeletem. Uvedené bylo potvrzeno také spektrofotometrickým měřením pomocí borohydrid/chloranilového testu v metanolických extraktech vybraných hnědých řas ²⁵.

Florotaniny jsou asi nejznámější fenolické látky řas, které jsou přítomny v poměrně vysokých koncentracích u zástupců rodu *Fucus* a *Ascophyllum* ^{26, 27}. Tyto látky mohou tvořit až 15 % z celkové sušiny, jsou integrální součástí buněčných stěn řas a bylo prokázáno, že plní významné funkce při interakcích mezi řasami a organismy, které se jimi živí. Jak bylo uvedeno výše, jedná se o lineární nebo větvené oligomerní a polymerní struktury, navzájem propojených floriglucinolových jednotek, jejichž molekulová hmotnost se pohybuje nejčastěji od 10 do 100 kDa. Florotaniny tvoří velmi rozsáhlou skupinu metabolitů čítající asi 150 látek, které jsou rozdělovány do jednotlivých skupin podle typu vazby spojující monomery floriglucinolů (XVI). Mezi nejznámější a nejčastěji studované florotaniny řadíme tetrafukol A (XVII), tetrafloretol B (XVIII), tetraiso-fuhalol (XIX) a fukodifloretol A (XX). Uvedení zástupci jsou nejčastěji zkoumáni v řase *Fucus vesiculosus*, k čemuž jsou využívány různé izolační postupy a HPLC separace na reverzních i normálních fázích ^{28, 29}.

ZÁVĚR

Metabolické produkty řas vykazují různé fyziologické účinky na *in vitro* nebo *in vivo* systémy včetně přímého dopadu různých přípravků (primárně potravinových doplňků řas) na metabolismus člověka. Obsahové látky řas včetně fenolických metabolitů mají prokazatelné antioxidační účinky a mohou významně přispívat k eliminaci volných radikálů a oxidačních činidel v organismu ^{22, 30}. Kromě výše uvedeného mají řasy a jejich produkty velmi příznivé nutriční ukazatele, což bylo nastíněno výše.

Literatura z přelomu 20. a 21. století uvádí, že roční obrat spojený s využíváním řas činí 5–6 miliard USD ročně, což koresponduje s progresivním uplatněním řas v různých technologických postupech, farmacii a potravinářském průmyslu. Předpokládáme, že konkrétní obsahové látky řas, a to především biologicky aktivní metabolity, mohou být v budoucnu aplikovány jako antioxidační komponenty léčiv, inhibitory enzymů a toxiny účinné proti vybraným buněčným liniím. Zda naleznou fenolické monomery nebo složité struktury florotaninů řas a sinic uplatnění v některém z odvětví farmaceutického nebo potravinářského průmyslu však stále zůstává otázkou.

Výzkum fenolických látek v řasách a sinicích na Ústavu chemie a biochemie MZLU v Brně je financován prostředky z grantového projektu GAČR 525/07/0338.

LITERATURA

- Kalina, T., Váňa, J.:** Sinice, řasy, houby a mechorošty a podobné organismy v současné biologii. Praha: Karolinum 2005.
- Šetlík, I., Doucha, J.:** Sinice a řasy. In: Prugar, J. a kol. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Praha: Výzkumný ústav pivovarnický a sladařský, a.s. 2008.
- Grima, E. M., Belarbi, E. H., Fernandez, F. G. A., Medina, A. R., Chisti, Y.:** *Biotechnol. Adv.*, 2003; 20, 491–515.
- Plaza, M., Cifuentes, A., Ibanez, E.:** *Food Sci. Technol.*, 2008; 19, 31–39.
- Cardozo, K. H. M., Guaratini, T., Barros, M. P., Falcao, V. R., Tonon, A. P., Lopes, N. P., Campos, S., Torres, M. A., Souza, A. O., Colepicolo, P., Pinto, E.:** *Comp. Biochem. Phys. C*, 2007; 146, 60–78.
- Pulz, O., Gross, W.:** *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2004; 65, 635–648.
- Burianová, I., Machát, J., Nedobová, E., Doucha, J., Kanický, V.:** *Chem. Listy*, 2005; 14, 273–276.
- Kreitlow, S., Mundt, S., Lindequist, U.:** *J. Biotechnol.*, 1999; 70, 61–63.
- Leflaive, J., Ten-Hage, L.:** *Freschw. Biol.*, 2007; 52, 199–214.
- Skulberg, O. M.:** *J. Appl. Phycol.*, 2000; 12, 341–348.
- Hrdina, V., Měrka, V., Patočka, J., Hrdina, R.:** *Voj. zdrav. Listy*, 2008; 127, 110–122.
- Dembitsky, V. M., Řezanka, T.:** *Folia Microbiol.*, 2005; 50, 363–391.
- Briones-Nagata, M. P., Martinez-Goss, M. R., Hori, K.:** *J. Appl. Phycol.*, 2007; 19, 675–683.
- Vacek, J., Klejdus, B., Lojková, L., Kubáň, V.:** *J. Sep. Sci.*, 2008; 31, 2054–2067.
- Vacek, J., Klejdus, B., Lojková, L., Kubáň, V.:** *Čes. slov. Farm.*, 2008; 57, 85–94.
- Klejdus, B., Vacek, J., Lojková, L., Benešová, L., Kubáň, V.:** *J. Chromatogr. A*, 2008; 1195, 52–59.
- Boudet, A.-M.:** *Phytochemistry*, 2007; 68, 2722–2735.
- Klejdus, B., Kopecký, J., Benešová, L., Vacek, J.:** *J. Chromatogr. A*, 2009; 1216, 763–771.
- Onofrejová, L., Vašíčková, J., Klejdus, B., Stratil, P., Mišurcová, L., Kráčmar, S., Kopecký, J., Vacek, J.:** *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2009; (v tisku).
- Hayat, S., Atta-Ur-Rahman, Choudhary, M. I., Khan, K. M., Abbaskhan, A.:** *Chem. Pharm. Bull.*, 2002; 50, 1297–1299.
- de Carvalho, L. R., Roque, N. F.:** *Quim. Nova*, 2000; 23, 757–764.
- Li, K., Li, X.-M., Ji, N.-Y., Wang, B.-G.:** *J. Nat. Prod.*, 2008; 71, 28–30.
- Ragan, M. A., Jensen, A.:** *Phytochemistry*, 1979; 18, 261–262.
- Mendiola, J. A., Marín, F. R., Hernández, S. F., Arredondo, B. O., Senorans, F. J., Ibanez, E., Reglero, G.:** *J. Sep. Sci.*, 2005; 28, 1031–1038.
- Šnóblová, M., Klejdus, B., Vacek, J.:** nepublikované výsledky, 2009.
- Koivikko, R.:** Brown algal phlorotannins improving and applying chemical methods, University of Turku, Finland, doktorská práce, 2008.
- Koivikko, R., Loponen, J., Honkanen, T., Jormalainen, V.:** *J. Chem. Ecol.*, 2005; 31, 195–212.
- Koivikko, R., Loponen, J., Pihlaja, K., Jormalainen, V.:** *Phytochem. Anal.*, 2007; 18, 326–332.
- Parys, S., Rosenbaum, A., Kehraus, S., Reher, G., Glombitza, K.-W., König, G. M.:** *J. Nat. Prod.*, 2007; 70, 1865–1870.
- Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., Jiang, Y.:** *Food Chem.*, 2007; 102, 771–776.