

ARGLABINA - LAKTON SESKWITERPENOWY O WŁAŚCIWOŚCIACH PRZECIWNOWOTWOROWYCH

Marta Grech-Baran, Agnieszka Pietrosiuk*

Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny,
Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02 097 Warszawa

* autorka korespondująca, tel. +22 5720982, e-mail: agnieszka.pietrosiuk@wum.edu.pl

Otrzymano 19.04.2010; zaakceptowany 17.05.2010; zamieszczony 29.06.2010

STRESZCZENIE

W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat biogenezy laktonów seskwiterpenowych oraz właściwości biologicznych i mechanizmu działania arglabiny, jednego z ważnych metabolitów z tej grupy. Arglabina - [1(R),10(S)-epoksy-5(S),5(S),7(S)-gwaja-3(4),11(13)-dien-6,12-nolid], należy do grupy laktonów seskwiterpenowych o szkielecie typu gwajanolidu. Występuje w kilku gatunkach z rodzaju *Artemisia* (Asteraceae). Po raz pierwszy związek ten wyizolowano i oznaczono w kwiatach i liściach gatunku *Artemisia glabella* Kar. et Kir. Badania biologiczne wykazały silne właściwości przeciwzapalne, a przede wszystkim przeciwnowotworowe arglabiny.

SŁOWA KLUCZOWE: *Artemisia*, laktony seskwiterpenowe, arglabina, aktywność biologiczna, aktywność przeciwnowotworowa

ABSTRACT

ARGLABIN - SESQUITERPENE LACTONE REVEALING ANTITUMOR ACTIVITY

This review highlights the present state of knowledge on the biogenesis of sesquiterpene lactones, in particular biological activities and mechanism of action of arglabin, one of the important metabolite of this group. Arglabin - [1(R),10(S)-epoxy-5(S),5(S),7(S)-guaia-3(4),11(13)-dien-6,12-nolid], represents sesquiterpene gamma-lactones of the guaianolides type. This compound occurs in a few species from *Artemisia* (Asteraceae) genus. It was originally isolated from the flowers heads and leaves of *Artemisia glabella* Kar. et Kir. Biological studies showed strong anti-inflammatory, but predominantly antitumor activity of arglabin.

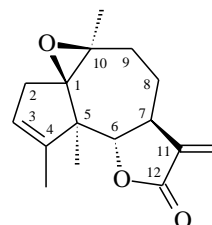
KEYWORDS: *Artemisia*, sesquiterpene lactones, arglabin, biological activities, antitumor activity

1. Wprowadzenie

Laktony seskwiterpenowe należą do grupy metabolitów wtórnych o dużym znaczeniu w chemotaksonomii roślin z rodziny Asteraceae (Astrawatych). Sporadycznie są spotykane w rodzinach Apiaceae, Magnoliaceae, Lauraceae, Winteraceae, Illiaceae, Aristolochiaceae, Menispermaceae, Cortiaceae i Acanthaceae. W ciągu ostatnich trzydziestu lat setki nowych laktonów seskwiterpenowych zostało zidentyfikowanych w wielu gatunkach roślin należących do rodziny Asteraceae. Laktony seskwiterpenowe zlokalizowane są we włoskach gruczołowych występujących na liściach, w kwiatach i nasionach roślin. Obok różnych typów pochodnych acetylenowych uważane są za najbardziej użyteczną grupę związków w biochemicznej systematyce tej rodziny. Są to substancje bezbarwne, rozpuszczalne w tłuszczach, alkoholach lub wodzie. Wiele z nich wykazuje aktywność biologiczną. Przykładem laktonu seskwiterpenowego o działaniu przeciwzapalnym i przeciwnowotworowym jest arglabina (Ryc. 1). Pod względem chemicznym jest to [1(R),10(S)-epoksy-5(S),5(S),7(S)-gwaja-3(4),11(13)-dien-6,12-nolid]. Dotychczas związek ten zidentyfikowany został tylko w dwóch gatunkach: *Artemisia glabella* Kar. et Kir. oraz *Artemisia myriantha* Wall. ex Bess. *Artemisia glabella* jest endemiczną byliną występującą w centralnej części Kazachstanu. Jest to pierwszy gatunek,

z którego pozyskano arglabinę. Ponadto jest on źródłem związków flawonoidowych i olejku eterycznego. Podobne składniki wykazujące aktywność biologiczną zawiera drugi z wymienionych gatunków *A. myriantha* występujący w Azji [1,2,3,4]. W Polsce rośnie dziesięć gatunków z rodzaju *Artemisia* (z rodziny Asteraceae), z których *Artemisia absinthium* uważana jest za roślinę leczniczą.

W pracy zebrano i przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat biogenezy laktonów seskwiterpenowych oraz właściwości biologicznych i mechanizmu działania arglabiny.



Ryc. 1. Cząsteczka arglabiny.

2. Biogeneza laktonów seskwiterpenowych

Laktony seskwiterpenowe stanowią liczną grupę związków zbudowanych z pięciowęglowych jednostek prenylowych - pirofosforanu izopentenylu i jego izomeru - pirofosforanu

dimetyloallilu. Jednostki te powstają z acetylokoenzymu A poprzez etap kwasu mewalonowego. Kluczowym związkiem w biosyntezie seskwiterpenów jest *trans*, *trans*-pirofosforan farnezyli, który powstaje na drodze kondensacji liniowej trzech jednostek prenylowych. W wyniku cyklizacji *trans*, *trans* pirofosforanu farnezyli powstają seskwiterpeny o szkielecie germakranowym, które są prekursorami dla większości laktonów występujących w rodzinie *Asteraceae*. Dalsze modyfikacje to wprowadzenie grup karboksylowej i hydroksylowej, oraz laktonizacja z wytworzeniem γ -laktonów. Prekursory germakranowe, przed jak i po laktonizacji mogą ulegać strukturalnym modyfikacjom, takim jak: cyklizacja, rozerwanie pierścienia, przemieszczanie się grup metylowych czy też podwójnych wiązań, prowadzącym do powstania laktonów seskwiterpenowych o różnych szkieletach węglowych [5,6].

Biogenezę laktonów seskwiterpenowych po raz pierwszy przedstawił Herz [7] grupując je w oparciu o budowę ich szkieletów węglowych w czterech kolumnach reprezentujących kolejne etapy biogenezy (Ryc. 2). W pierwszym etapie biogenezy powstają germakranolidy. Wywodzące się z nich lub ich nielaktonowych prekursorów eudesmanolidy i gwajanolidy, powstają w drugim etapie biogenezy w wyniku jednej modyfikacji pierścienia węglowego. Eudesmanolidy i gwajanolidy są następnie produktami pośrednimi w

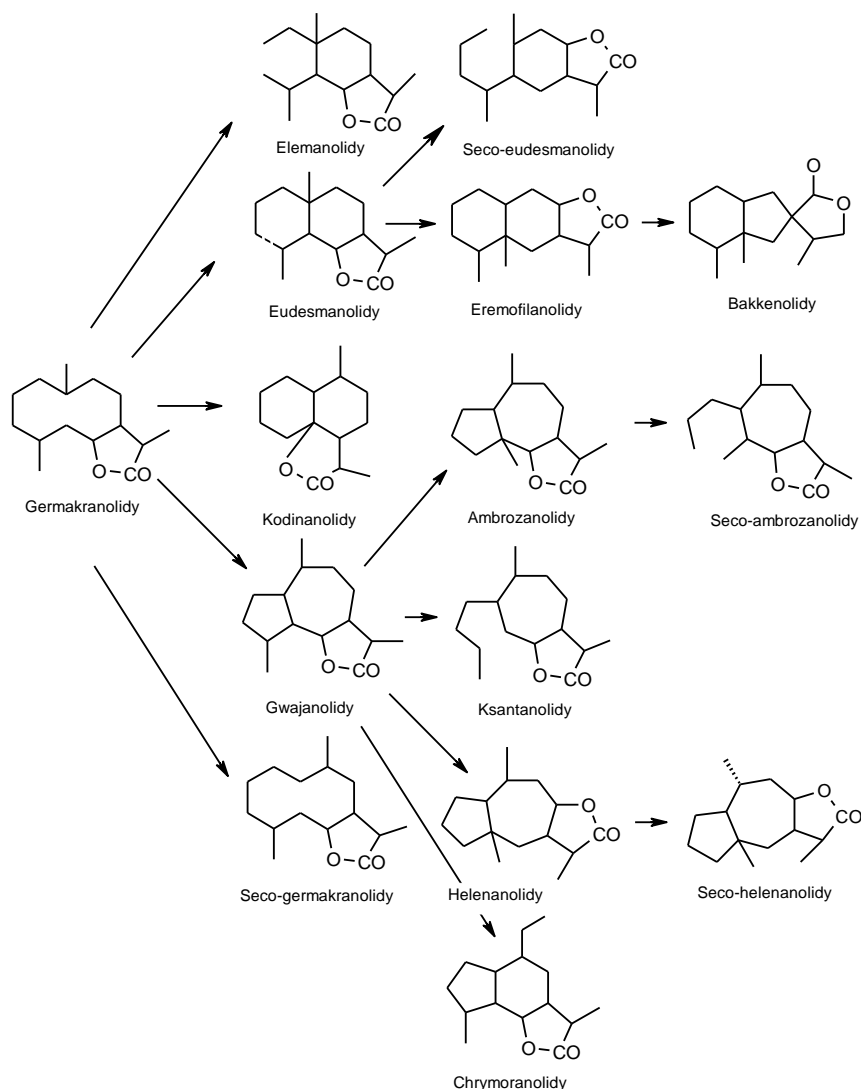
biosyntezie pozostałych typów szkieletów węglowych. Do głównych typów laktonów seskwiterpenowych sklasyfikowanych na podstawie budowy szkieletów węglowych zaliczamy: germakranolidy, gwajanolidy, pseudogwajanolidy, eudesmanolidy, eremofilanolidy i ksantanolidy.

Arglabina (Ryc. 1) należy do grupy laktonów typu gwajanolidu, które stanowią największą z grup spośród laktonów występujących w *Asteraceae*.

3. Właściwości biologiczne i mechanizm działania arglabiny

Seskwiterpeny wykazują różnorodną aktywność biologiczną. W tej licznej grupie występują związki działające: bakteriobójczo, przeciwzapalnie, żółciopędnie, przeciw pasożytniczo, przeciwgrzybiczo, immunomodulująco a także alergizująco [8] oraz substancje działające przeciwkrwotocznie i przeciwnowotworowo [2,3,5,9,10].

Do znanych z aktywności przeciwnowotworowej i cytotoksycznej laktonów seskwiterpenowych zalicza się ridentynę, kaninę, arglabinę, α -santoninę, wulgarynę oraz ludowicynę (Tabela 1).

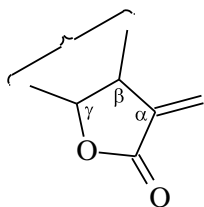


Ryc. 2. Schemat biogenezy laktonów seskwiterpenowych

Tabela 1. Laktony seskwiterpenowe z rodzaju *Artemisia* o aktywności przeciwnowotworowej i cytotoksycznej.

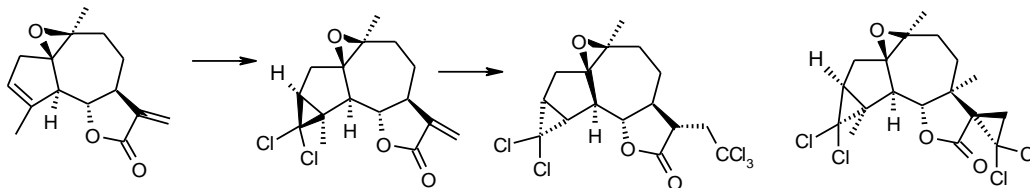
Związek	Gatunek	Piśmiennictwo
Germakranolid		
Ridentyna	<i>Artemisia</i> sp.	[6]
Gwajanolidy		
Kanina	<i>Artemisia cana</i>	[6]
Arteglazyna-A	<i>Artemisia douglasiana</i>	[6]
Arglabina	<i>Artemisia glabella</i>	[1,2]
Arglabina	<i>Artemisia myriantha</i>	[3]
Kanina	<i>Artemisia albida</i>	[5,10]
Eudesmanolidy		
α -Santonina	<i>Artemisia</i> sp.	[6]
Wulgaryna	<i>Artemisia vulgaris</i>	[6]
Ludowicyna	<i>Artemisia ludoviciana</i>	[6]

Arglabina wykazuje silne właściwości przeciwzapalne, ale przede wszystkim przeciwnowotworowe. Mechanizm działania przeciwnowotworowego arglabiny wynika z budowy jej cząsteczki (Ryc. 3). Działanie to warunkuje obecność grupy α -metyleno- γ -laktonowej [5].

Ryc. 3. Fragment zawierający grupę α -metyleno- γ -laktonową.

Z badań zależności aktywności biologicznej od budowy strukturalnej w grupie laktonów seskwiterpenowych wynika, że obecność przy C₁₁-C₁₃ podwójnego egzocyklicznego wiązania sprzężonego z γ -laktonem odpowiada za działanie cytotoksyczne tych związków [5]. Dodatkowo obecność grup funkcyjnych, np. epoksydowej (arglabina), hydroksylowej (1B,10 α -dihydroksyarglabina) [11], nienasyconych ketonów przyłączonych do grupy α -metyleno- γ -laktonu [5] może zmieniać reaktywność związku poprzez modyfikację nukleofilowości cząsteczki. Związki, które posiadają endocykliczne podwójne wiązanie dają niestabilne połączenia addytywne z L-cysteiną i są nieaktywne. Laktony seskwiterpenowe, które zawierają w swojej strukturze cyklopentenon charakteryzują się zwiększoną cytotoksycznością. Laktony posiadające tylko α,β -nienasycony ester nie wykazują znaczącej aktywności biologicznej [5].

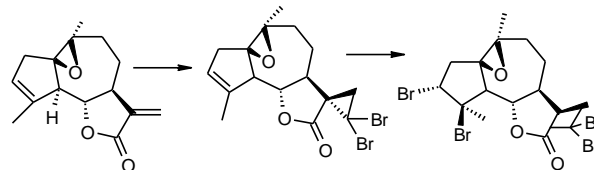
Laktony wykazujące aktywność biologiczną, np. arglabina, hamują enzymy komórkowe na drodze selektywnej alkilacji typu Michaela poprzez łączenie z grupami sulfhydryłowymi wewnątrzkomórkowego glutationu lub L-cysteiny w środowisku słabo zasadowym.



Ryc. 5. Chloropochodne arglabiny. Kolejno powstają (1R,3S,4R,5R,6S,7R,10S,11R)-1,10-epoksy-4,5:11,13-dichlorometano-gwaja-3-en-12,6-olid, oraz (1R,3S,4R,5R,6S,7R,10S,11R)-1,10-epoksy-4,5:11,13-bis(dichlorometano)gwaja-3-en-12,6-olid.

Podobnie w grupie eudesmanolidów występują związki hamujące enzym fosfofruktokinazę zawierający wiele grup hydrosulfidowych (-SH).

Od czasów wyizolowania i poznania struktury arglabiny, prowadzone są liczne badania mające na celu modyfikację cząsteczki w celu rozszerzenia i wzmocnienia działania tego związku. Opisano modyfikację pierścienia laktonowego prowadzącą do dibromometylenowych pochodnych arglabiny, a w kolejnym etapie do bis-dibromometylenowych pochodnych (Ryc. 4) [13,14]. Enancjoselektywna synteza arglabiny przeprowadzona została po raz pierwszy w roku 2007 przez badaczy niemieckich [12].

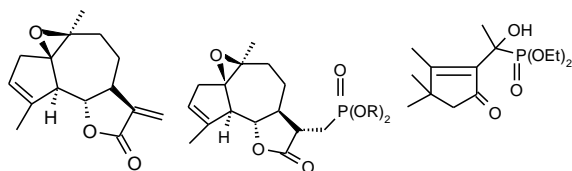


Ryc. 4. Bromowanie cząsteczki arglabiny. Kolejno powstają (1R,3S,4R,5R,6S,7R,10S,11R)-1,10-epoksy-4,5:11,13-dibromometano-gwaja-3-en-12,6-olid, oraz (1R,3S,4R,5R,6S,7R,10S,11R)-1,10-epoksy-4,5:11,13-bis(dibromometano)gwaja-3-en-12,6-olid.

Przekształcenia tego typu mają na celu modyfikacje w kierunku działania przeciwrzybiczego. Doświadczenia przeprowadzane na szczepach *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* oraz *Penicillium citrinum* wykazały aktywność przeciwrzybiczą badanego związku.

Podobne zastosowanie mają dichlorometylenowe pochodne (Ryc. 5) [15].

W celu wzmocnienia działania przeciwnowotworowego badane są także fosforowe pochodne laktonu (Ryc. 6) [16].



R = Me (2), Et (3)

Ryc. 6. Pochodne fosforowe arglabiny.

Z fosfoorganicznymi pochodnymi związku wiązane są duże nadzieje. Obecnie arglabina najsilniejsze działanie wykazuje jako DMA-arglabina [17]. Tę pochodną uzyskano dzięki addycji chlorowodoru dimetyloaminy do węgla C13 arglabiny i w takiej postaci związek został zarejestrowany w Kazachstanie, Rosji i USA (Georgia) jako substancja przeciwnowotworowa.

Dotychczasowe badania *in vitro* prowadzone były głównie na komórkach białaczkowych P388 - linii limfocytów, J774.1 - linii makrofagów, linii komórek KNRK (K-Ras transformowana komórka nerki szczura) i innych [17,18,19]. W Kazachstanie związek ten stosowany jest ponadto w leczeniu raka jajnika i piersi *in vivo*.

Badania *in vitro* DMA-arglabiny wykazały nie tylko wysoką aktywność cytotoksyczną, lecz również właściwości inhibicji farnesylotransferazy - enzymu uczestniczącego w wiązaniu białek Ras z błoną cytoplazmatyczną. Geny Ras odgrywają znaczącą rolę w przewodzeniu sygnałów komórkowych, proliferacji i nowotworowej transformacji. Mutacje Ras, zwłaszcza genu N-Ras i K-Ras, biorą udział w patogenezie ludzkich nowotworów, w tym także białaczek szpikowych [20].

Mutacje protoonkogenów Ras obserwuje się w wielu typach nowotworów ludzkich. Onkogenne procesy prowadzą do wzmożonej aktywności białka Ras spowodowanej jego stałym połączeniem z GTP i aktywnością GTP-azową. Badania kinetyki cząsteczki arglabiny wykazują, iż jej pochodna fosforowa konkurencyjnie blokuje wiązanie farnesylodifosforanu do Ftazy - enzymu katalizującego proces farnesylacji, będącym pierwszym etapem potranslacyjnej modyfikacji białek Ras [21].

Ftaza modyfikuje białka poprzez przeniesienie pirofosforanu farnesylu (F) na cysteinę fragmentu CAAX (C-cysteina; A-aminokwas alifatyczny; X-dowolny aminokwas), a następnie po odłączeniu fragmentu AAX i przyłączeniu grupy karboksymetylowej powoduje zakotwiczenie cząsteczki Ras w błonie cytoplazmatycznej. Arglabina blokuje przyłączenie się pirofosforanu farnesylu do ludzkiego białka H-Ras w IC₅₀ nie większym niż 25 µM [19].

Testy wykazały również, iż cząsteczka przeciwdziała proliferacji komórek KNRK, które nie podlegają zakotwiczeniu w IC₅₀ = 10 µg/ml. W przypadku kolonii agarowych zawierających transformowane komórki H-Ras i K-Ras IC₅₀ wynosi od 2-5 µg/ml. W pierwotnych kulturach różnych ludzkich komórek nowotworowych arglabina hamowała proliferację w stężeniu od 0,85 do 5,0 µg/ml [18].

W przypadku badań przeprowadzonych na linii makrofagów J774.1, arglabina wykazywała silną aktywność cytotoksyczną w niskich dawkach (0,125 - 1,25 µg/ml). Wywoływała znaczącą stymulację komórkowego metabolizmu, dodatkowo również sekrecję cytokin IL-1, TNF - alpha, IL-2 [19]. Wyniki uzyskane z doświadczeń z użyciem komórek

białaczki P388 transformowanych myszom wykazały iż podawana w kilkukrotnych dawkach arglabina powoduje wysoką inhibicję DNA transformowanych komórek [18].

4. Wnioski

W związku z opisanymi właściwościami farmakologicznymi arglabina wydaje się być skutecznym związkiem leczniczym w przypadku nowotworów Ras - zależnych. Istnieje tylko niewielka liczba doniesień na temat toksyczności tego związku w stosunku do zdrowych komórek gospodarza, dlatego też zachodzi potrzeba dalszych badań preparatu DMA-arglabiny. Zastosowanie technik biotechnologicznych stwarza możliwość uzyskania materiału roślinnego wytwarzającego z dużą wydajnością laktony seskwiterpenowe o działaniu cytostatycznym również przez inne gatunki należące do rodzaju *Artemisia*.

WYKAZ SYMBOLI I SKRÓTÓW

- Geny Ras - rodzina genów kodujących białka niezbędne do przekazywania sygnałów z otoczenia do wnętrza komórki
- Białka Ras - białka wykazujące zdolność wiązania i hydrolizy GTP, odpowiedzialne za przewodnictwo w obrębie komórki
- GTP - guanozynotrifosforan
- DMA-arglabina - dimetyloaminoarglabina
- KNRK - K-Ras transformowana komórka nerki szczura

BIBLIOGRAFIA

- Newman D.J., Cragg G.M. Natural Product as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. *Journal of Natural Products* 2007, 70, 461-477.
- Adekenov S.M., Mukhametzhano M.N., Kagarlitskii A.D., Kupriyanov A.N. Arglabin - A new sesquiterpene lactone from *Artemisia glabella*. *Chemistry of Natural Compounds* 1982, 18 (5), 23-624.
- Ho-Fai W., Brown G.D. Germacranolides from *Artemisia myriantha* and their conformation. *Phytochemistry* 2002, 59, 529-536.
- Seidakhmetova R.B., Beisenbaeva A.A., Atazhanova G.A., Suleimenov E.M., Pak R.N., Kulyasov A.T., Adekenov S.M. Chemical composition and biological activity of the essential oil from *Artemisia glabella*. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 2002, 36, 135-138.
- Rodriguez E., Towers G.H.N., Mitchell J.C. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Phytochemistry* 1976, 15, 1573-1579.
- Kisiel W. Laktony seskwiterpenowe w chemotaksonomii *Compositae*. *Wiadomości Botaniczne* 1990, 34 (1), 13-18.
- Herz W., Heywood V.H., Harborne J.B., Turner B.L. The biology and chemistry of the *Compositae*. Academic Press, London, 1977, 11, 337-338.
- Kisiel W. Laktony seskwiterpenowe o działaniu przeciwpalnym w roślinach leczniczych. *Wiadomości Zielarskie* 1995, 7/8, 24-25.37.
- Suleimenov E.M., Smagulova F.M., Morozova O.V., Raldugin V.A., Bagryanskaya I.Yu., Gatilov Yu.V., Yamovoi V.I., Adekenov S.M. Sesquiterpene lactones and flavonoids from *Artemisia albida*. *Chemistry of Natural Compounds* 2005, 41 (6), 689-691.
- Suleimenov E.M., Raldugin V.A., Adekenov S.M. Anhydroaustrocin from *Artemisia albida*. *Chemistry of Natural Compounds* 2008, 44 (4), 541-542.
- Adekenov, S.M., Turdybekov, K.M., Aituganov, K.A., Lindeman, S.V., Struchkov, Yu.T., Shaltakov, S.N. 1B,10a-dihydroxyarglabina a new sesquiterpene lactone from *Artemisia glabella*. *Chemistry of Natural Compounds*, 1993, 29 (6), 735-739.
- Kalidindi S., Leong W.B., Schall A., Bandichhor R., Nosse B., Enantioselective synthesis of arglabin. *Angewandte Chemie*. 2007, 46, 6361-6363.

13. Dzhalmakhanbetova R.I., Kuliasov, Adekenov S.M., Raldugin V.A., Bagryanskaya Yu.V., Shakirov M. The 2nd International Conference on Natural Products and Physiologically Active Substances. Novosibirsk. 2004, 64- 65.
14. Jalmakhanbetova R.I., Atazhanova G.A., Raldugin V.A., Bagryanskaya Yu.V., Gatilov M., Adekenov S.M.. Crystal structure of a tetrabromo derivative of cyclopropyldihydroarglabin and its antifungal activity. Chemistry of Natural Compounds. 2006, 42 (3), 307-309.
15. Jalmakhanbetova R.I., Atazhanova G.A., Raldugin V.A., Bagryanskaya Yu.V., Adekenov S.M., Preparation and structure elucidation of two minor products from reaction of arglabin with chloroform in the presence of a crown ether. Chemistry of Natural Compounds. 2007, 43 (5), 548-551.
16. Jalmahanbetova R.I., Rakhimova B.B., Raldugin.V.A., Bagryanskaya I.Yu., Gatilov V., Shakirov M.M., Kulyjasov A.T. Adekenov S.M., Tolstikov G.A. First synthesis of dialkyl phosphonate derivatives of sesquiterpene α -methylene- γ -lactone. Russian Chemical Bulletin, International Edition 2003, 52, 748-751.
17. Shaikenov T.E., Adekenov S.M., Williams R.M., Prashad N., Baker F.L., Madden T.L., Newman R. Argabin-DMA, a plant derived sesquiterpene, inhibits farnesyltransferase. Oncology Reports 2001, 8 (1),173-179.
18. Zhangabylov N.S., Dederer L. Yu., Gorbacheva L.B., Vasil`eva S.V., Adekenov S.M. Sesquiterpene lactone arglabin influences DNA synthesis in P388 leukemia cells *in vivo*. Pharmaceutical Chemistry Journal. 2004, 38, 651-653.
19. Bottex-Gauthier C, Vidal D, Picot F, Potier P, Menichini F, Appendino G. *In vitro* biological activities of arglabin a sesquiterpene lactone from the Chinese herb *Artemisia myriantha* Wall. Biotechnol Ther. 1993,4 (1-2), 77-98.
20. Korycka A., Góra-Tybor J., Robak T. Farmakologia i perspektywy klinicznego zastosowania inhibitora białkowej farnesylotransferazy RI 15777. Acta Haematologica Polonica. 2001, 32, 4,367-374.
21. End D.W. Farnesyl protein transferase inhibitors and other therapies targeting the Ras signal transduction pathway. Investigational New Drugs. 1999, 17, 241-258.