

Inhibice α -amylázy a α -glukosidázy přírodními látkami

PharmDr. Jan Martin Ph.D., doc. RNDr. Jaroslav Dušek, CSc.

Katedra farmakognosie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Lidská výživa se skládá ze tří základních složek: sacharidů, lipidů a proteinů. Sacharidy přitom tvoří až 60 % a většina z tohoto množství je přijímána ve formě škrobů. Trávicí systém štěpí tento polysacharid pomocí enzymů – amyláz a glukosidáz – až na glukózu, která je základním zdrojem energie pro živočišné buňky.

Inhibicí amyláz a glukosidáz se snižuje biologická dostupnost glukózy a dochází k redukci postprandiální hyperglykemie (zvýšené množství glukózy v krvi po jídle). Tyto inhibitory mohou hrát významnou úlohu při diagnostice a léčbě cukrovky a obezity. Látky s tímto účinkem se vyskytují i v některých rostlinách a v poslední době jsou předmětem intenzivního výzkumu.

Klíčová slova: α -amyláza, α -glukosidáza, inhibitory, 1-deoxynojirimycin, anthokyany, prokyanidiny.

Inhibition of α -amylase and α -glucosidase with natural substances

Human nutrition consists of three main components: saccharides, lipids, and proteins. Saccharides account for as much as 60 percent and most of this amount comes in the form of starches. By using enzymes (amylases and glucosidases), the digestive system breaks down this polysaccharide into glucose which is the basic source of energy for animal cells.

The inhibition of amylases and glucosidases decreases the biological availability of glucose, thus reducing postprandial hyperglycaemia (elevated blood glucose after a meal). These inhibitors may play a significant role in diagnosing and treatment of diabetes and obesity. Substances having this effect are also found in certain plants and have been intensively studied recently.

Key words: α -amylase, α -glucosidase, inhibitors, 1-deoxynojirimycin, anthocyanins, procyanidins.

Prakt. lékař. 2009; 5(2): 92–95

α -Amyláza, α -glukosidáza a jejich inhibitory

α -Amyláza (EC 3.2.1.1) je extracelulární enzym obsažený ve slinách a v pankreatické šťávě. Rozkládá 1,4- α -D-glykosidové vazby na kterémkoliv místě polymerů obsahujících tři a více těchto vazeb. Škrob je tímto enzymem rozštěpen na maltosu, maltotriosu a směs oligosacharidů. Produktem je i malé množství volné glukózy.

α -Glukosidáza (EC 3.2.1.20) je enzym, který je produkován kartáčovým lemem enterocytů a odštěpuje glukózové molekuly z oligosacharidů a disacharidů. Glukóza pak přechází do krevního řečiště a je jedním z hlavních zdrojů energie.

Po jídle, mimo jiné i díky těmto enzymům, dochází ke zvýšení hladiny glukózy v krvi. Inhibicí těchto enzymů dochází ke zpomalení rozkladu polysacharidů v trávicím traktu a nárůst množství cukru v krvi není tak výrazný.

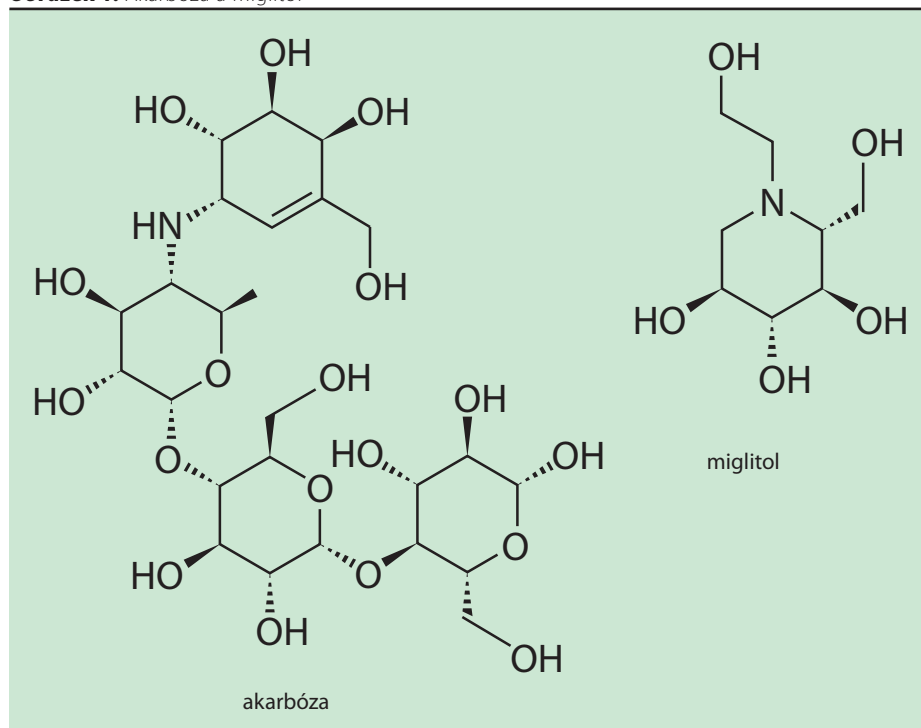
V současnosti se jako inhibitory těchto enzymů používají tři látky: akarbóza, voglibóza a miglitol. Jedná se o látky mikrobiálního původu, takže je lze také zahrnout do kategorie přírodních léčiv.

Akarbóza je pseudotetrasacharid, který se po perorálním podání nevstřebává. Kompetitivně inhibuje oba výše zmíněné enzymy. Voglibóza je monosacharid, který

ovšem narozdíl od akarbózy inhibuje selektivně α -glukosidázu. Miglitol je derivát piperidinu, a i tato látka působí přímo v zažívacím traktu. Na rozdíl od akarbózy se částečně vstřebává a vylučuje se močí, avšak vstřebaná látka nemá vlastní farmakologický účinek.

Tyto inhibitory se používají obvykle v kombinované terapii s deriváty sulfonylurey, a to především u pacientů s diabetem 2. typu. Akarbózu lze použít i u pacientů s diabetem 1. typu, pokud mají velké postprandiální výkyvy glykemie. Doporučují se zejména u obézních diabetiků,

Obrázek 1. Akarbóza a miglitol



protože v kombinaci s dietou pomáhají redukovat nadváhu.

Nežádoucím účinkem této skupiny léčiv jsou střevní obtíže jako nadýmání, flatulence, nauzea, průjemy. Tyto problémy souvisí s kvasnými změnami nevstřebaných sacharidů v tlustém střevě, zejména při nedodržení diety.

Rostlinné inhibitory amyláz a glukosidáz

V průběhu evoluce si rostliny vytvářely určité obranné mechanismy proti mikroorganismům, hmyzu a jiným škůdcům. Tato obrana spočívá v syntéze určitých sloučenin (sekundárních metabolitů) jako jsou antibiotika, alkaloidy, terpeny, kyanogenní glykosidy a některé proteiny. Některé rostlinné látky tak mohou mít i inhibiční účinek na trávicí enzymy škůdců, mimo jiné i na α -amylázu a α -glukosidázu.

Následující výčet rostlin majících tento inhibiční efekt není úplný, ale obsahuje nejvíce studované a nejperspektivnější druhy.

Moruše bílá (*Morus alba*)

Z listů a plodů moruše byl izolován 1-deoxynojirimycin, nojirimycin a další polyhydroxylované alkaloidy se silnými inhibičními účinky na α -glukosidázu.

1-deoxynojirimycin (obrázek 2) má rovněž silné antibiotické a antivirové vlastnosti. Je to skutečně velmi perspektivní látka také z toho důvodu, že se dá snadno syntetizovat a jeho výroba je ekonomicky nenáročná. V současné době se používá v řadě experimentů jako standard inhibiční aktivity na α -glukosidázu a probíhají toxikologické studie ověřující jeho použitelnost v medicíně.

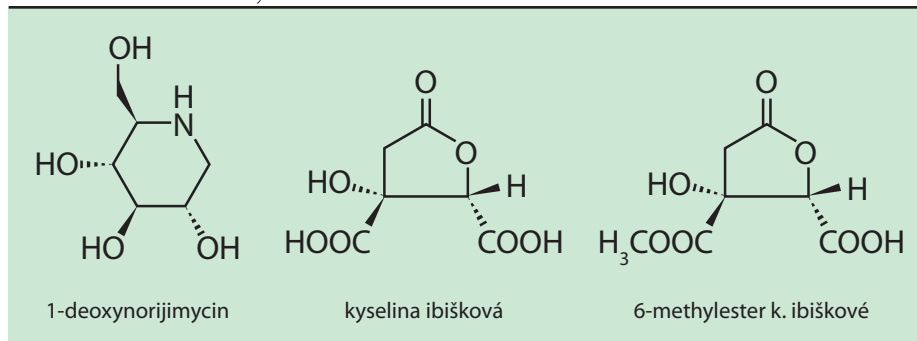
Zajímavé je, že se tyto alkaloidy koncentrují v bourci morušovém, který se listy této rostliny živí. Jejich koncentrace v jeho těle je téměř trojnásobná než v listech moruše. Bourec se na tyto alkaloidy adaptoval, takže na rozdíl od jiného hmyzu nejsou pro něj toxické (1).

Ibišek súdánský (*Hibiscus sabdariffa*)

Tento ibišek je pěstován hlavně v tropických a subtropických oblastech Afriky, Indie a Indonésie. Jeho květ se v čajových směsích používá jako červené barvivo a aromaticum, ale má i významné antioxidační vlastnosti.

Ostatní části rostliny, zejména plod a nať, mají také zajímavé farmakologické efekty. V Africe se ibišek tradičně používá jako diuretikum, proti vysokému krevnímu tlaku, při jaterních problémech, při tvorbě ledvinových a močových

Obrázek 2. Obsahové látky *Morus alba* a *Hibiscus sabdariffa*



kamenů, jako mírné laxativum, a v neposlední řadě také jako antiobezikum (2).

Rostlina obsahuje kromě anthokyanů odpovědných za červenou barvu květu i flavonoidy, saponiny a stopové množství zatím neznámých alkaloidů. Dále jsou obsaženy organické kyseliny a značné množství volných aminokyselin.

Moderní věda potvrdila silný antihypertenzivní efekt této drogy (3) a existují i studie ověřující pozitivní vliv na obezitu (2). Za tyto účinky jsou zodpovědné dvě látky obsažené v *H. sabdariffa* – kyselina ibišková a její 6-methylester (obrázek 2). Mají silný inhibiční efekt na α -amylázu, takže významně snižují množství glukózy uvolněné z polysacharidů. Vliv na α -glukosidázu byl také měřen, ale ukázalo se, že je velmi slabý (4).

Ibišek má vliv na tělesnou hmotnost pravděpodobně i jiným mechanismem. Zasahuje do metabolismu tuků a cholesterolu, ale přesnější údaje zatím nejsou známy. Tento efekt se připisuje anthokyanům obsaženým v květu rostliny (5).

Pinus densiflora a jiné druhy borovic

Inhibiční aktivita na výše zmíněné enzymy byla zjištěna u některých druhů borovic. Jedná se o *Pinus densiflora*, *Pinus thunbergii*, *Pinus koraiensis* (borovice hustokvětá, b. thunbergova, b. korejská). Bylo zjištěno, že ethanolické extrakty z kůry a z jehlic všech těchto druhů mají silný inhibiční efekt na α -amylázu obsaženou ve slinách, a také na vepřovou pankreatickou α -amylázu. U *Pinus densiflora* a *Pinus koraiensis* je účinek extraktu z kůry dokonce srovnatelný s účinkem akarbózy. Stejně jako u akarbózy se jedná o inhibici kompetitivní.

Je zřejmé, že látky z kůry a jehlic přecházející do extraktu mají pro rostlinu ochranný efekt, protože jejich inhibiční aktivita je mnohem větší při použití mikrobiálních amyláz a glukosidáz (ze *Saccharomyces cerevisiae* a *Bacillus stearothermophilus*). Rozdíl je i ve způsobu inhibice, u mikrobiálních α -glukosidáz jde o inhibici smíšenou: nekompetitivní a akompetitivní. (Rozdíl ve ve-

likosti aktivit a v kinetice inhibice jsou zřejmě způsobeny odlišnou strukturou enzymů u savců a u mikroorganismů. Extrakty jsou navíc směsí mnoha různých látek a mohou být obsaženy látky s různou kinetikou a vlivem na enzymy).

Dále bylo zjištěno, že tyto látky jsou stabilní i v podmínkách napodobujících lidský zažívací trakt, to znamená při nízkých hodnotách pH a při vyšších teplotách. Jejich použití je tedy poměrně perspektivní (6).

V jiném experimentu byl zkoumán vliv extraktů na postprandiální hladinu glukózy u potkanů a bylo ověřeno, že extrakt snižuje tuto hladinu podobně jako akarbóza. Oproti kontrole docházelo jak u akarbózy, tak u extraktu k redukcí tělesné hmotnosti, a to při stejném množství zkonzumované potravy. Tento vliv byl patrný jak u zdravých potkanů, tak u potkanů s diabetes mellitus 2. typu (7).

Konkrétní látky odpovědné za pozorované účinky zatím nejsou známy. Nicméně podle některých studií by se mohlo jednat o prokyanidiny (též zvané proanthokyaniny nebo leukoanthokyaniny), které byly objeveny u jiných druhů borovic, a u kterých byla prokázána inhibiční amylázová aktivita (8).

Prokyanidiny jsou katechinové polyfenoly složené z dvou a více jednotek katechinu, epikatechinu nebo epigallokatechinu (obrázek 3). Jedná se tedy o polyfenolické látky se silnými antioxidačními účinky.

Standardizovaný extrakt z kůry borovice přímořské (*Pinus pinaster*), který je již na trhu pod jménem Pycnogenol®, je deklarován jako antioxidační. Má i velmi silné inhibiční účinky na glukosidázu, a to dokonce silnější než má akarbóza. Tento přípravek byl nejdříve testován pouze na glukosidáze z kvasinek. Vliv na savčí potažmo lidské enzymy však může být diametrálně odlišný. V roce 2007 byla provedena studie, která ukázala schopnost tohoto přípravku snižovat postprandiální hladinu glukózy i u člověka, takže jeho použití u diabetes mellitus 2. typu je nadějně. Za účinek jsou odpovědné oligomerní

prokyanidiny. Nejvyšší účinek mají zřejmě tetramery a vyšší oligomery (9).

Další rostliny s obsahem prokyanidinů a anthokyanů

U extraktu z rostlin *Ipomoea nil*, *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae) a *Brassica oleracea* (brkev zelná, Brassicaceae) byla rovněž objevena významná inhibice α -amylázy a α -glukosidázy. Účinek se připisuje obsahu acylovaných anthokyanů (10).

Anthokyany a prokyanidiny jsou odpovědné též za účinek extraktů z černého rybízu, borůvek, červeného zelí, jahod, malin a červeného vína. Tyto extrakty mají v pokusech *in vitro* vliv na amylázu i glukosidázu. Zatímco polyfenolické látky inhibují spíše α -amylázu, anthokyany jsou účinné u α -glukosidáz. (Po odstranění polyfenolů z extraktu byla inhibiční aktivita na amylázu potlačena). Ukazuje se zde jedna z výhod rostlinných extraktů. Jsou často účinnější a ve svém účinku komplexnější než jednotlivé izolované látky (11).

Bergenia ciliata a *Camelia sinensis*

Bergenia ciliata (Saxifragaceae) je vysokohorská skalnička pocházející z Asie. Roste v Himalájích a v Kašmíru. Lidově je používána v Nepálu při léčbě diabetes mellitus. V kombinaci s dalšími rostlinami se používá i proti řadě dalších onemocnění.

Tradiční použití této rostliny jako léku na cukrovku je odůvodněné. Vědecké studie potvrdily, že extrakt z rostliny má inhibiční efekt jak na α -amylázu, tak na α -glukosidázu a snižuje postprandiální hladinu glukózy v krvi. Byly izolovány i dvě látky, které jsou za tento účinek odpovědné. Jedná se o (-)-3-O-galloylepikatechin a (-)-3-O-galloylkatechin (obrázek 3) (12).

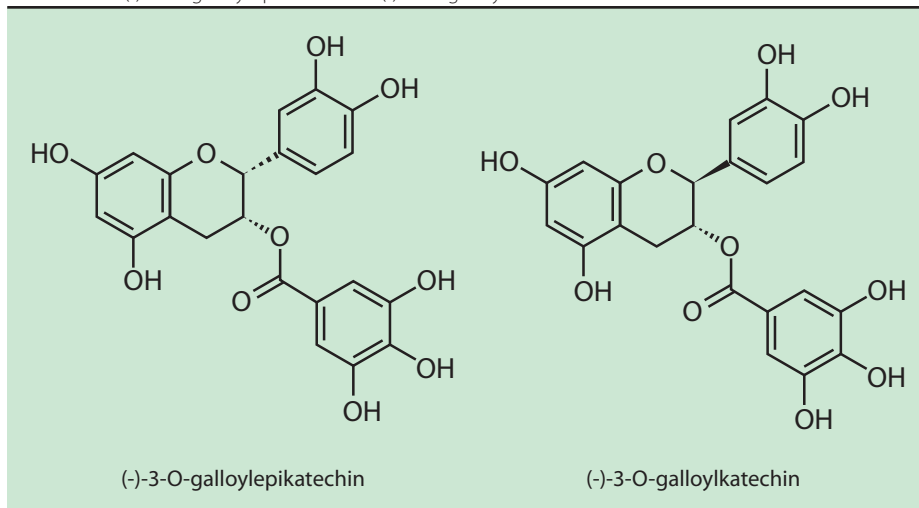
Kromě toho se zdá, že rostlina má i výrazné protizánětlivé, antibakteriální a antitusické účinky (13, 14).

Obě výše zmíněné látky se vyskytují i v nefermentovaném (zeleném) čaji (*Camelia sinensis*) a potvrdilo se, že společně s flavonoidy a dalšími katechiny mají, kromě antioxidačních a protizánětlivých vlastností, i antidiabetický efekt (17). Pro jejich účinek je zjevně důležitá esterifikace kyselinou gallovou (18,19).

Ostatní rostliny s inhibičním účinkem

Zajímavé je i objevení inhibiční aktivity na α -glukosidázu u touchi, což je tradiční čínské jídlo vyrobené z fermentovaných sójových bobů. Ve studii na 18 diabetických pacientech bylo prokázáno snížení glykemie i snížené množ-

Obrázek 3. (-)-3-O-galloylepikatechin a (-)-3-O-galloylkatechin



ství glykovaného hemoglobinu po pravidelném podávání vodného extraktu z touchi. Touchi má pozitivní efekt i na metabolismus lipidů a snižuje celkové množství cholesterolu při zachování hladiny HDL (tzv. „hodného“) cholesterolu.

U žádného z pacientů se neobjevily nežádoucí účinky jako nauzea, žaludeční a střevní potíže, nadýmání nebo průjem, které jsou poměrně časté u léčby pomocí akarbózy. Bezpečnost dlouhodobého podávání extraktu z touchi byla ověřena i na zdravých pacientech. Překvapivě však nebyl prokázán očekávaný vliv na tělesnou hmotnost (15,16).

Inhibice byla zjištěna i u několika dalších rostlinných látek a rostlinných drog. Jejich účinek je ale nějakým způsobem problematický. Například alkaloidy z *Areca catechu* (Arecaceae) jsou silnými inhibitory, ale pro jejich vedlejší účinky a toxicitu je jejich použití prakticky vyloučeno. Některé další rostliny mají vliv na α -amylázu a α -glukosidázu, ale jejich aktivita byla buď měřena pouze na mikrobiálních enzymech, nebo byla u savců amyláz a glukosidáz velmi nízká. Příkladem mohou být obsahové látky z čínského stromu *Eucommia ulmoides* (Eucommiaceae) (20).

Závěr

Inhibitory amyláz a glukosidáz hrají důležitou roli ve zvládnutí postprandiální hyperglykemie u diabetu 2. typu a lze pomocí nich také redukovat tělesnou hmotnost. Je nutné si však uvědomit, že jejich použití by mělo být provázeno dodržováním vhodné diety.

I když rostlinné inhibitory amyláz a glukosidáz zatím nejsou terapeuticky používány, mají oproti akarbóze a miglitolu řadu výhod. Jednou z nich je daleko menší výskyt nežádoucích účinků. Lze to vysvětlit tím, že rostlinné inhibitory inhibují v daleko větší míře i mikrobiální (kva-

sinkové) amylázy a glukosidázy. Nerozštěpené oligosacharidy a polysacharidy tak ve střevě nepodléhají kvasným procesům a nedochází ke vzniku střevních problémů.

Další výhodou je komplexní účinek rostlinných drog a extraktů. Většina látek odpovědných za inhibiční účinek má také další farmakologicky prospěšné vlastnosti, například antioxidační a protizánětlivé.

I když bezpečnost a toxicita výše zmíněných rostlin zatím nebyla plně prozkoumána, z tradičního užívání např. ibišku a moruše lze odvodit nezávadnost těchto rostlinných drog. Jejich použití jako doplňku k řádné terapii diabetu a obezity je tedy možné a přínosné.

Autoři tímto děkují za finanční podporu výzkumnému záměru MSM0021620822.

Literatura

1. Asano N, Yamashita T, Yasuda K, et al. Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees (*Morus alba* L.) and silkworms (*Bombyx mori* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2001; 49: 4208–4213.
2. Haji Faraji M, Haji Tarkhami A. The effect of sour tea (*Hibiscus sabdariffa*) on essential hypertension. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 65: 231–236.
3. Ajay M, Chai HJ, Mustafa AM, et al. Mechanisms of the anti-hypertensive effect of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces. *Journal of Ethnopharmacology* 2007; 109: 388–393.
4. Hansawasdi C, Kawabata J, Kasai T. *Hibiscus* acid as an inhibitor of starch digestion in the Caco-2 cell model system. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 2001; 65: 2087–2089.
5. Lin TL, Lin HH, Chen CC, et al. *Hibiscus sabdariffa* extract reduces serum cholesterol in men and women. *Nutrition Research* 2007; 27: 140–145.
6. Kim YM, Wang MH, Rhee HI. A novel α -glucosidase inhibitor from pine bark. *Carbohydrate Research* 2004; 339: 715–717.
7. Kim YM, Jeong YK, Wang MH, et al. Inhibitory effect of pine extract on α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition* 2005; 21: 756–761.

8. Jerez M, Touriño S, Sineiro J, et al. Procyanidins from pine bark: Relationships between structure, composition and antiradical activity. *Food Chemistry* 2007; 104: 518–527.
9. Schäfer A, Högger P. Oligomeric procyanidins of French maritime pine bark extract (Pycnogenol®) effectively inhibit α -glucosidase. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2007; 77: 41–46.
10. Matsui T, Ueda T, Oki T, et al. α -Glucosidase Inhibitory Action of Natural Acylated Anthocyanins. 1. Survey of Natural Pigments with Potent Inhibitory Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2001; 49: 1948–1951.
11. McDougall GJ, Shpiro F, Dobson P, et al. Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α -amylase and α -glucosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005; 53: 2760–2766.
12. Bhandari MR, Jong-Anurakkun N, Hong G, et al. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). *Food Chemistry* 2008; 106: 247–252.
13. Sinha S, Murugesan T, Maiti K, et al. Antibacterial activity of *Bergenia ciliata* rhizome. *Fitoterapia* 2001; 72: 550–552.
14. Sinha S, Murugesan T, Pal M, et al. Evaluation of anti-tussive activity of *Bergenia ciliata* Sternb. rhizome extract in mice. *Phytomedicine* 2001; 8: 298–301.
15. Hiroyuki F, Tomohide Y, Kazunori O. Efficacy and safety of Touchi extract, an α -glucosidase inhibitor derived from fermented soybeans, in non-insulin-dependent diabetic mellitus. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2001; 12: 351–356.
16. Hiroyuki F, Tomohide Y, Kazunori O. Long-term ingestion of Touchi-extract, an α -glucosidase inhibitor, by borderline and mild type-2 diabetic subjects is safe and significantly reduces blood glucose levels. *Nutrition Research* 2003; 23: 713–722.
17. Honda M, Hara Y. Inhibition of rat small intestinal sucrase and α -glucosidase activities by tea polyphenols. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 1993; 57: 123–124.
18. Matsui T, Tanaka T, Tamura S, et al. Alpha-glucosidase inhibitory profile of catechins and theaflavins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007; 55: 99–105.
19. Matsumoto N, Ishigaki F, Ishigaki A, et al. Reduction of blood glucose levels by tea catechins. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 1993; 57: 525–527.
20. Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, et al. Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from tochiu-cha (*Eucommia ulmoides*). *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 1997; 61: 177–178.

PharmDr. Jan Martin Ph.D.

Katedra farmakognosie, Farmaceutická fakulta
Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
jan.martin@faf.cuni.cz
