

Gamma-oryzanol jako przykład kompleksu estrów fitosteroli i kwasu ferulowego o szerokiej aktywności biologicznej

STRESZCZENIE


Rośliny są naturalnymi laboratoriami, których wtórny metabolizm produkuje całe bogactwo związków chemicznych o ogromnym potencjale terapeutycznym. Olej ekstrahowany z otrębów ryżowych, stanowiących frakcję uboczną w procesie obróbki brązowego ryżu, obfituje w substancje biologicznie cenne. Jednym z głównych składników oleju ryżowego jest gamma-oryzanol stanowiący mieszaninę będących pochodnymi fitosteroli lub triterpenów oraz kwasu ferulowego. Substraty te charakteryzują się szeroką aktywnością biologiczną ściśle skorelowaną z ich właściwościami chemicznymi. Kluczowe w kontekście poprawy fizjologii i funkcjonowania organizmu są hipocholesterolemiczne oraz antyoksydacyjne właściwości tych związków. Z tego względu coraz więcej badań skupia się na wykorzystywaniu gamma-oryzanolu w terapiach wielu chorób przewlekłych, a nawet jako obiecującego, niefarmakologicznego środka leczniczego wspomagającego leczenie COVID-19 u osób cierpiących na nadwagę. W pracy scharakteryzowano strukturę chemiczną i działanie gamma-oryzanolu w oparciu o aktywność biologiczną estrów fitosteroli i kwasu ferulowego będących składnikami tej złożonej mieszaniny. Ponadto, opisano przykłady oddziaływania gamma oryzanolu na niektóre procesy fizjologiczne w organizmie człowieka i zwierząt.

WPROWADZENIE

Ryż (*Oryza sp.*), jest gatunkiem jednorocznej rośliny zbożowej z rodziny wiechlinowatych (*Poaceae*) i ze względu na zmienność morfologiczną wyróżnia się dwa główne gatunki, *Oryza glaberrima* oraz *Oryza sativa* reprezentowany głównie przez podgatunki: (*Oryza sativa japonica*) oraz (*Oryza sativa indica*) [1]. Ryż stanowi elementarny składnik diety dla niemalże połowy ludzkości i spożywany jest on najczęściej w formie oczyszczonych z zewnętrznych niejadalnych warstw polerowanych ziaren, występując pod nazwą ryżu białego [2]. W skład otrębów wchodzi przede wszystkim zarodki, warstwy aleuronowe oraz okrywy nasienne. Otręby ryżowe wykazują wysoką zawartość witamin, makro i mikroelementów (m.in. fosforu, żelaza, magnezu, miedzi, seleniu i cynku), błonnika pokarmowego, białek oraz lipidów [3,4]. Główny rezerwuuar tłuszczu stanowią komórki warstw aleuronowych i subaleuronowych otaczających bogate w skrobię bielmo ziarna. Ze wspomnianych otrębów ryżowych, tłoczy się olej charakteryzujący się bogactwem i zróżnicowaniem tworzących go substancji aktywnych biologicznie. Kluczowymi składnikami oleju ryżowego są sterole roślinne, związki fenolowe, witamina E, mikro- oraz makroelementy, a także jest on jednym z najbogatszych źródeł gamma-oryzanolu [2,5]. Ostatni z wymienionych zasługuje na szczególną uwagę ze względu na szerokie spektrum aktywności biologicznej, które zawdzięcza dużemu zróżnicowaniu tworzących go komponentów. Obecność gamma-oryzanolu potwierdzono w oleju ekstrahowanym z otrębów ryżowych oraz innych roślin zbożowych takich jak jęczmień, pszenica i kukurydza [5]. Konwencjonalne metody produkcji oleju z otrębów ryżowych obejmują zwykle ekstrakcję rozpuszczalnikiem lub tłoczenie na zimno [6]. Najpopularniejszą, jest ekstrakcja przeprowadzana za pomocą heksanu. Okazało się jednak, że przy zastosowaniu etanolu zamiast heksanu końcowa zawartość gamma-oryzanolu była nawet dwukrotnie wyższa [6,7]. Warto podkreślić, że naukowcy uznali metodę wodnej ekstrakcji z otrębów ryżowych wspomaganą różnymi enzymami (alfa-amylaza, celulaza, proteaza) za ekologicznie przyjazny proces dający olej najwyższej jakości. Olej ryżowy pozyskiwany w ten sposób posiada lepsze cechy pod względem koloru, zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i właściwości antyoksydacyjnych [8].

CHARAKTERYSTYKA KOMPONENTÓW WCHODZĄCYCH W SKŁAD GAMMA-ORYZANOLU.

Pierwszą izolację gamma-oryzanolu z otrębów ryżu siewnego (*Oryza sativa*) przeprowadzili Kaneko i Tsuchiya w 1954 roku identyfikując go jako unikalny związek o maksimach absorpcji 230, 290 i 315 nm [9]. Określono, że pozbawiona

dr Ewa Młodzińska-Michta ,
Weronika Korzeniowska

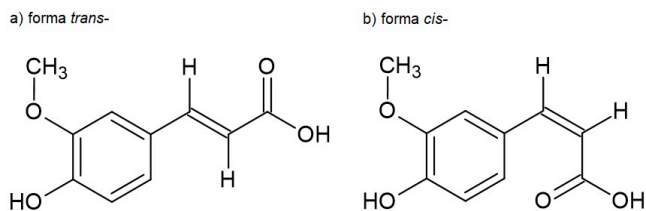
Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin, Wydział
Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski

https://doi.org/10.18388/pb.2021_391

✉ autor korespondujący: ewa.mlodzinska-
michta@uwr.edu.pl

Słowa kluczowe: fitosterole, gamma-oryzanol, kwas ferulowy, *Oryza sativa*, ryż

Wykaz skrótów: VLDL – lipoproteina bardzo małej gęstości (ang. *Very Low Density Lipoprotein*); LDL – lipoproteina małej gęstości (ang. *Low Density Lipoprotein*); HMG-CoA – 3-Hydroksy-3-metyloglutarylokoenzym A; DPPH – 2,2-difenyl-1-pikrylohydrazyl; NF-κB – jądrowy czynnik transkrypcyjny κB (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*)



Rycina 1. Wzory strukturalne izomerycznych form kwasu ferulowego.

smaku i wyraźnej woni żółtawa substancja jest w niewielkim stopniu rozpuszczalna w rozpuszczalnikach organicznych oraz nierozpuszczalna w wodzie. Późniejsze analizy dowiodły, że gamma-oryzanol stanowi wielozwiązkową mieszaninę głównie zestyfikowanych form kwasu ferulowego [2]. Ustalono, że estry kwasu ferulowego i steroli roślinnych stanowią, obok estryfikowanych kwasem ferulowym triterpenów, jedną z dwóch głównych frakcji gamma-oryzanolu [10]. Motywacją do wnikliwej analizy składu chemicznego tej mieszaniny było powiązanie właściwości chemicznych z obserwowanymi korzyściami prozdrowotnymi płynącymi z jej spożywania. Ponownie duże zainteresowanie tematem gamma-oryzanolu nastąpiło w odpowiedzi na rozwój rynku żywności funkcjonalnej i nutraceutyków.

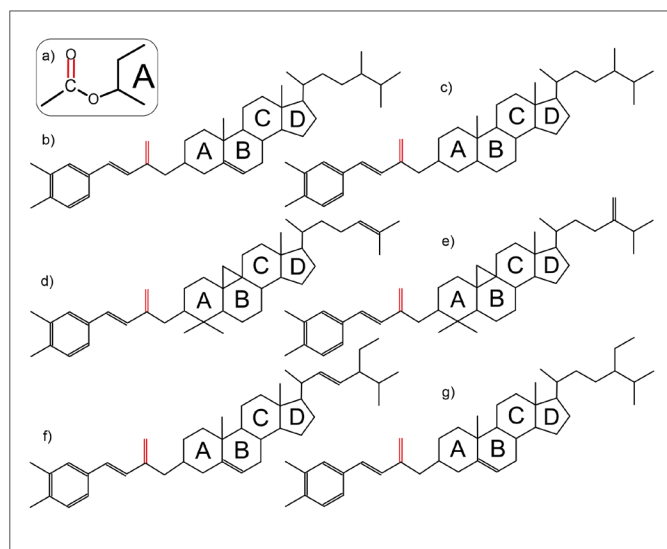
Kwas ferulowy (kwas 4-hydroksy-3-metoksycynamonowy) zawdzięczający swoją nazwę roślinie z rodziny selerowatych, *Ferula foetida*, jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych związków fenolowych u roślin [11]. Jego budowa strukturalna opiera się na aromatycznym szkieletie fenolu z przyłączonymi do niego grupami: hydroksylową (-OH) oraz metoksyłową (-OCH₃). Kwas ferulowy jest reprezentowany przez dwie izoformy z grupą karboksylową (-COOH) w następujących konformacjach: dominującej *trans*- (a) lub *cis*- (b) (Ryc. 1) [12].

Jego cząsteczka pełni rolę prekursora między innymi dla kurkuminy oraz alkoholi koniferylowego i sinapinowego. Kwas ferulowy występuje naturalnie w postaci wolnej, zdimeryzowanej lub zestyfikowanej [12]. Podobnie jak fitosterole jest on wykrywany we wszystkich organach roślinnych. Związki fenolowe takie jak kwas ferulowy są silnie związane z polisacharydami ściany komórkowej, głównie arabinoksyfanami, które sieciują się ze sobą i z innymi składnikami ściany komórkowej np. z ligniną. Sieciowanie takie pełni istotną rolę w budowie i wzroście ściany komórkowej oraz chroni wnętrze komórki roślinnej przed inwazją patogenów [13]. Dzięki absorpcji UV kwas ferulowy pełni funkcję fotoprotekcyjną, a także bierze udział w tworzeniu stabilnych rodników fenoksyłowych [14].

Substratami w biosyntezie kwasu ferulowego jak i innych fenolokwasów są aminokwasy aromatyczne, w tym fenyloalanina. Na drodze szlaku szikimowego cząsteczki kwasu cynamonowego są przekształcane do kwasu p-kumarowego, a następnie kwasu kawowego. Produktem ciągu reakcji, w tym końcowego etapu metylacji, jest omawiany kwas ferulowy [15]. Związek ten wykazuje między innymi potwierdzone wynikami badań laboratoryjnych właściwości przeciwstarzeniowe, przeciwzapalne oraz przyspieszające regenerację mięśni, co jest związane z jego wysoką

zdolnością do wychwytywania wolnych rodników [12]. Utrzymywanie ich na stałym, względnie niskim, poziomie w komórkach jest elementem niezbędnym dla ograniczania dotkliwych skutków, tak zwanego, stresu oksydacyjnego. Zjawisko to jest ściśle związane z obecnością reaktywnych form tlenu i azotu w żywych komórkach i może w znaczny sposób determinować rozwój chorób przewlekłych [16].

Fitosterole (sterole roślinne) występują w komórkach wszystkich roślin. Są ważnymi składnikami strukturalnymi, które stabilizują błony komórkowe, pełniąc funkcję podobną do cholesterolu w błonach komórkowych zwierząt. Obecność glikozydowych pochodnych fitosteroli odnotowano w strukturach tratw lipidowych błon w komórkach roślinnych, gdzie są one niezbędne do prawidłowego funkcjonowania enzymów związanych z błonami. Fitosterole służą również jako prekursorzy w syntezie ważnych związków bioaktywnych, takich jak saponiny steroidowe, glikoalkaloidy steroidowe, fitoekdysteroidy i brassinosteroidy [17]. Fitosterole występują często w formie koniugatów, w których grupa -OH jest estryfikowana z kwasami tłuszczowymi np. cynamonowym i hydroksycynamonowym lub glikozylowana heksozą - zwykle glukozą [18]. Produktem przemiany zachodzącej pomiędzy grupą karboksylową w łańcuchu bocznym kwasu ferulowego a grupą hydroksylową fitosterolu są estry. Powstające w ten sposób związki posiadające wiązanie estrowe w swojej budowie, nazywane ferulanami, charakteryzują się dużą stabilnością chemiczną, zachowując jednocześnie potencjał do dalszych przekształceń (Ryc. 2a). Estry fitosteroli i kwasu ferulowego są grupą związków szeroko rozpowszechnionych u roślin, jednakże pewne tkanki czy też organy mogą zawierać znacznie większe ich ilości. Wykazano, że wyższe stężenia estrów występują między innymi w nasionach, stanowiąc pulę magazynowanych steroli oraz stanoli. Kiełkująca roślina korzysta ze zgromadzonych w ten sposób substancji jako substratów w kolejnych etapach wzrostowo-rozwojowych [19]. Pomimo dużej różnorodności strukturalnej w omawianej grupie pochodnych tych związków, zaledwie kilkanaście stanowi



Rycina 2. Struktura chemiczna głównych składników gamma-oryzanolu z wyróżnieniem wiązań nienasyconych.

główną frakcją estrów kwasu ferulowego w składzie gamma-oryzanolu. Do najważniejszych reprezentantów zaliczyć można ferulany terpenów takich jak cykloartanol (d) i 24-metylenocykloartanol (e) oraz fitosteroli: kampesterylu (b), kampestanolu (c), β -sitosterylu (f) oraz stigmasterylu (g) (Ryc. 2) [20].

BADANIE AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ GAMMA-ORYZANOLU

Gamma-oryzanol jako mieszanina związków chemicznych wykazujących szerokie spektrum aktywności biologicznej ciągle pozostaje interesującym obiektem badań eksperymentalnych. Analizy prowadzone są głównie na modelach zwierzęcych, zwykle gryzoniach i skupiają się na próbach wyjaśnienia mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za prozdrowotne właściwości fitosteroli oraz kwasów hydroksycynamonowych [21]. W przeprowadzonych w niezależnych jednostkach badawczych obserwacjach zauważono poprawę stanu zdrowia zwierząt i ludzi wynikającą z suplementacji określonymi porcjami fitosteroli oraz ich pochodnych. Wielokrotnie też potwierdzano dobroczynny wpływ steroli roślinnych na poprawę ogólnego funkcjonowania ludzkiego organizmu [22,23]. Liczne doniesienia naukowe zwracają uwagę na fakt, że związki steroli roślinnych zarówno w formach wolnych jak i zestryfikowanych charakteryzują się dużą aktywnością chemiczną. Zdolność interakcji z innymi cząsteczkami wynikająca najczęściej ze zbliżonej budowy, jak również z obecności ściśle określonych grup funkcyjnych, mogą warunkować wielokierunkowe działania prozdrowotne [24]. W kontekście modulowania procesów fizjologicznych podkreśla się w szczególności hipocholesterolemiczne oraz antyoksydacyjne właściwości składników tworzących gamma-oryzanol.

DYSLIPIDEMIE ORAZ REGULACJA GOSPODARKI LIPIDOWEJ

Zaburzenia związane z gospodarką lipidową organizmu są bezpośrednią konsekwencją dyslipidemii definiowanej jako nieprawidłowy stosunek związków tłuszczowych do pozostałych składników osocza krwi. Zjawisko to dotyczy może zbyt wysokiego stężenia ogólnej frakcji lipidów lub też jednego z lipidowych komponentów. Istnieje wiele czynników zwiększających ryzyko wystąpienia takich zaburzeń np. zbyt mała aktywność fizyczna, dieta bogata w wielonasycone kwasy tłuszczowe oraz predyspozycje genetyczne. Zachwianie homeostazy lipidowej organizmu może skutkować występowaniem nieprawidłowości w funkcjonowaniu komórek oraz patologii w obrębie układu sercowo-naczyniowego [25]. W grupie schorzeń związanych z niewłaściwą dystrybucją lub też metabolizmem związków lipidowych wyróżnić można między innymi miażdżycę oraz hipercholesterolemię. Rozwój zmian arteriosklerotycznych w ujęciu ogólnym polega na rozroście blaszki miażdżycowej uniemożliwiającej swobodny przepływ krwi przez światło naczyń krwionośnych [26]. Zmiany patologiczne w naczyniach krwionośnych i organach związane są ze wzrostem stężenia triglicerydów, cholesterolu w formie wolnej i zestryfikowanego kwasami tłuszczowymi oraz oksysteroli we krwi [25]. Zwiększone zagęszczenie tych cząsteczek, ich

akumulacja w przestrzeniach oraz utlenianie do oksysteroli powoduje tworzenie mas tłuszczowych [27]. Zmiana chemizmu w obrębie komórek skutkuje natomiast przyleganiem elementów morfotycznych do ich powierzchni i agregacją. Natomiast, hipercholesterolemia jest warunkowaną genetycznie nieprawidłowością związaną z metabolizmem oraz transportem cholesterolu [28]. Dyslipidemie nie są ograniczone jedynie do zaburzeń w regulacji poziomu związków tłuszczowych pochodzenia zwierzęcego. U ludzi występuje także fitosterolemia objawiająca się kilkukrotnie wyższym poziomem absorpcji roślinnych cząsteczek lipidowych dostarczanych wraz z dietą [26]. Zaburzenie to jest niezwykle rzadkim zjawiskiem ze względu na autosomalnie recesywny sposób dziedziczenia. Organizmy osób nieprzejawiających wyraźnych dysfunkcji w gospodarce lipidowej zdolne są do wchłaniania najpowszechniejszego roślinnego sterolu, czyli sitosterolu, na poziomie nie wyższym niż 6%. W przypadku stwierdzonej fitosterolemii obserwuje się natomiast nadmierną absorpcję przekraczającą nawet 63% [29]. Terapie mające na celu obniżanie poziomu cholesterolu całkowitego, zwłaszcza frakcji chylomikronów, VLDL oraz LDL wykorzystują związki z grupy statyn [30]. Wykazują one działanie inhibujące aktywność enzymu reduktazy HMG-CoA odpowiedzialnego za tworzenie mewalonianu [31]. Niedobór tego istotnego dla ciągu przemian związku skutkuje częściowym ograniczeniem biosyntezy oraz względnym zmniejszeniem stężenia cholesterolu we krwi. Stosowanie farmaceutyków dedykowanych konkretnemu schorzeniu może wiązać się niestety z występowaniem efektów niepożądanych, dlatego nieprzerwanie dąży się do udoskonalania efektywnych oraz mniej inwazyjnych sposobów leczenia [32]. Ważnym zaleceniem rekomendowanym przez specjalistów z Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego jest zmiana nawyków żywieniowych obejmujących między innymi zwiększenie udziału w diecie produktów roślinnych bogatych w nienasycone kwasy tłuszczowe oraz fitosterole, których istotnym źródłem może być olej z otrębów ryżowych [33].

HIPOCHOLESTEROLEMICZNE WŁAŚCIWOŚCI KOMPONENTÓW GAMMA-ORYZANOLU

Suplementacja fitosterolami jako przykład nefarmakologicznego elementu terapii hipocholesterolemicznej opiera się przede wszystkim na wykorzystywaniu ich zdolności do obniżania stopnia wchłaniania cholesterolu [34]. Sterole roślinne charakteryzują się odpowiednio zbliżoną strukturą chemiczną do opisywanego zoosterolu i posiadają zdolności obniżające efektywność jego absorpcji w jelicie cienkim [27]. Ze względu na powinowactwo steroli oraz stanoli roślinnych do włączania w strukturę miceli mogą w znacznym stopniu przyczyniać się do obniżania stężenia całkowitego cholesterolu we krwi.

Na początku przypuszczano, że hipocholesterolemiczne działanie sterolowych składników gamma-oryzanolu może wynikać z ograniczania wchłaniania cholesterolu. Pierwsze sformułowane hipotezy dopuszczały istnienie związku pomiędzy aktywnością fitosteroli, a zmianą ekspresji genu kodującego białko ABCA1 odpowiedzialnego za transport zestryfikowanego cholesterolu do naczyń limfatycznych [34]. Późniejsze analizy wykluczyły jednak taką korelację, jedno-

częście wskazując na prawdopodobny związek pomiędzy obecnością steroli roślinnych, a zwiększeniem aktywności błonowych transporterów z grupy ABCG [24]. Ponadto, same cząsteczki pochodzenia roślinnego w mniejszym stopniu ulegają estryfikacji niezbędnej do wbudowywania steroli w strukturę chylomikronów i dalszego transportu, dzięki temu ich stężenie może być utrzymywane przez organizm na względnie niskim poziomie [26]. Zważywszy na słabe możliwości przyswajania tych związków, oscylujące w granicach 0,2–2% odpowiednio w przypadku fitostanoli oraz fitosteroli [35], za optymalne przyjmuje się spożywanie dziennie od 2 do 3g tłuszczów pochodzenia roślinnego. Wnioski takie sformułowano na podstawie badań wykorzystujących najczęściej podstawowe produkty, będące składnikami codziennej diety, takie jak margaryny wzbogacone mieszaninami estrów fitosteroli [36]. Zawarte w takiej ilości związki pomagały już w znacznym stopniu ograniczać wchłanianie cholesterolu w jelicie cienkim u osób bez poważnych zaburzeń związanych z gospodarką sterolową [28].

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA WYNIKAJĄCA Z POTENCJAŁU PRZECIWUTLENIAJĄCEGO GAMMA-ORYZANOLU

Wolne rodniki są liczną grupą obojętnych, dodatnio czy też ujemnie naładowanych elektrycznie cząsteczek lub atomów towarzyszących wszystkim reakcjom metabolicznym. Powstają podczas rozrywania wiązań chemicznych, więc ich obecność jest nieodłącznym elementem prawidłowej fizjologii komórki [37]. Produkcja wolnych rodników w niezwykle dużych ilościach zachodzi w mitochondriach i peroksisomach. Ze względu na swój charakter chemiczny i wysoką aktywność wolne rodniki w stężeniach przekraczających poziomy optymalne przyczyniają się do uszkodzenia układów istotnych biologicznie. Zaburzają konformację struktur białkowych, cukrów, kwasów nukleinowych oraz dezorganizują architekturę dwuwarstwy lipidowej poprzez oksydację związków wchodzących w jej skład [38].

W pełni funkcjonalne komórki są zdolne do samodzielnego utrzymywania bilansu pomiędzy powstawaniem a eliminacją wolnych rodników. Każdy przejaw podwyższonego stężenia czynników utleniających jest natychmiastowo tłumiony dzięki sprawnemu funkcjonowaniu systemów przeciwutleniających. Istotą ich działania jest hamowanie oraz wyciszenie reakcji wolno rodnikowych za sprawą cząsteczek zwanych przeciwutleniaczami. Jedną z kategorii ich podziału jest charakter prezentowanej aktywności: enzymatyczny lub też nieenzymatyczny [38]. Zdarza się jednak, że w pewnych sytuacjach organizm nie jest w stanie w sposób regularny i efektywny eliminować nadmiaru reaktywnych form pierwiastków za pośrednictwem wewnątrzkomórkowych mechanizmów enzymatycznych lub nieenzymatycznych [39]. Wówczas to dodatkowym wsparciem dla komórki okazują się dostarczane wraz z dietą tak zwane zmiatacze wolnych rodników, których rolą jest wychwytywanie i tłumienie potencjału oksydacyjnego cząsteczek lub atomów o niesparowanych elektronach [38]. Do najpowszechniejszych substancji wykazujących taką aktywność zaliczyć można niewątpliwie kwas askorbinowy oraz grupę

tokoferoli składających się na witaminę E występującą wraz z kwasem ferulowym w oleju z otrębów ryżowych. Interesujące w aspekcie wykorzystania estrów kwasu ferulowego zawartych w gamma-oryzanolu mogą okazać się wyniki analiz porównawczych potencjałów przeciwutleniających wspomnianych substancji. Wykazano, że antyoksydacyjne zdolności hydroksypochodnej kwasu ferulowego wpływają na zwiększenie stabilności oraz efektywności działania głównych witamin pełniących funkcję przeciwutleniaczy dostarczanych wraz z dietą [40]. Silne właściwości antyoksydacyjne prezentowane między innymi przez kwasy hydroksycynamonowe oraz ich pochodne, związane są z obecnością jednoelektronowych atomów wodoru grup hydroksylowych zlokalizowanych w obrębie pierścienia fenolowego. Dzięki nim zarówno kwas ferulowy jak i jego formy zestryfikowane w kontakcie z cząstkami nietrwałymi mogą tworzyć ustabilizowane rodniki fenoksylowe [41]. Ostatnie doniesienia literaturowe zwracają również uwagę na interakcje pomiędzy antyoksydacyjnymi właściwościami alfa-tokorefolu, gamma-oryzanolu i fitosteroli zawartych w oleju ryżowym. Okazało się, że działanie tych związków może mieć charakter synergistyczny lub antagonistyczny w zależności od wzajemnego stosunku i stężenia tych substancji. Mieszanina tokoferolu i gamma-oryzanolu wykazuje najsilniejszą zdolność utleniania i zmiatania wolnego rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu). Natomiast przy wysokim stężeniu gamma-oryzanolu zmniejsza się zdolność tokoferolu do zwalczania wolnych rodników nadtlennokowych, wskazując na oddziaływanie antagonistyczne. Z kolei, interakcje pomiędzy fitosterolem a gamma-oryzaniem i utworzenie międzycząsteczkowego wiązania wodorowego powoduje wzmocnienie antyoksydacyjnego działania obu związków [42].

Potwierdzone wynikami badań laboratoryjnych zdolności wymiatania wolnych rodników przez zawarte w gamma-oryzanolu estry hydroksypochodnej kwasu cynamonowego mogą okazać się niezwykle pomocne w zapobieganiu fotostarzeniu skóry [43]. Kwas ferulowy, oprócz wspomaganie aktywności antyoksydantów poprzez zwiększanie ich stabilności, wykazuje wysoki stopień degradacji reaktywnych form pierwiastków gromadzonych w warstwach skóry [40]. Na tej podstawie można sądzić, że zabezpieczenie struktur budujących między innymi włókna kolagenowe mogłoby potencjalnie wpływać na zachowywanie ich funkcjonalności oraz opóźnianie tempa starzenia skóry [44]. Ponadto ochrona materiału genetycznego głębiej położonych komórek nabłonkowych wpływałaby również na zmniejszanie ryzyka wystąpienia zmian rakowych [40]. W badaniach z wykorzystaniem gryzoni dotkniętych takimi zmianami wykazano, że gamma-oryzanol wraz z pozostałymi składnikami oleju z otrębów ryżowych zmniejszał objętość guzów oraz stopień ich naciekania [45].

Podjeżdza się, że ferulany zawarte w gamma-oryzanolu mogą posiadać zdolności częściowego hamowania aktywności jądrowych czynników transkrypcyjnych, w tym NF- κ B (ang. *nuclear factor- κ B*). To z kolei, wskazuje na ich potencjalne działanie przeciwzapalne. Autorzy prac podkreślają jednak, że niezbędne byłoby przeprowadzenie kolejnych badań, ze względu na zmienny stopień wychwytywania komponentów gamma-oryzanolu oraz ich metabolitów

przez komórki poszczególnych tkanek [46]. Analizy potencjału biologicznego gamma-oryzanolu wskazują także, że posiada on pewne zdolności neuroprotektoryjne za sprawą modulowania szlaku sygnałowego Nrf2, którego celem jest S-transferaza glutationu. Enzym ten jest przeciwutleniaczem odpowiedzialnym za ochronę komórek nerwowych zlokalizowanych w mózgu przed degeneracją powodowaną stresem oksydacyjnym [47]. W badaniach, których celem było określenie związku pomiędzy aktywnością biologiczną tytułowej mieszaniny a wzrostem wydajności pamięciowej, wykazano dodatnią korelację. Udowodniono, że gamma-oryzanol wspomaga pracę białek zlokalizowanych w hipokampie u myszy, przyczyniając się do poprawy plastyczności synaptycznej oraz zagęszczenia sieci neuronalnej [47].

Ponadto, wykazano również wzrost wytrzymałości i siły mięśniowej przy suplementacji gamma-oryzanolem obserwowany podczas regularnych treningów oporowych [48]. W oparciu o wyniki badań wykorzystujących komórki tkanki mięśniowej poprzecznie prążkowanej, pobranej od młodego konia, ustalono również, że gamma-oryzanol przyspiesza możliwości regeneracyjne. Wzrost szybkości odbudowy mięśni po wysiłku fizycznym skorelowany jest ze wspomaganiem aktywności komórek satelitarnych niezbędnych dla prawidłowego procesu odbudowy włókien mięśniowych uszkodzonych podczas intensywnego treningu [49].

GAMMA - ORYZANOL W TERAPII PRZECIW COVID-19

Opublikowany niedawno, w prestiżowym czasopiśmie medycznym „Lancet Global Health” artykuł porusza temat pilnej potrzeby opracowania leków chroniących i zwalczających infekcję koronawirusem. Jednym z potencjalnych rozwiązań miałyby być środki lecznicze pochodzenia roślinnego o sprawdzonych właściwościach i bezpieczeństwie stosowania [50]. Najnowsze badania dotyczące gamma-oryzanolu skupiają się na przeciwzapalnym działaniu tej złożonej mieszaniny. A jednym z najbardziej obiecujących mechanizmów zahamowania reakcji zapalnych wywołanych przez SARS-Cov-2 jest blokowanie receptorów gamma aktywowanych przez proliferatory peroksydomów (PPAR-gamma). Receptory te występują między innymi w tkance tłuszczowej i pełnią rolę czynników transkrypcyjnych regulujących ekspresję licznych genów, zaangażowanych w różnicowanie adipocytów, metabolizm lipidów, węglowodanów, stres oksydacyjny i stany zapalne. U osób cierpiących na nadwagę zaobserwowano poważniejsze negatywne skutki zarażenia Sars-Cov-2 z powodu występowania tzw. „burzy cytokin” będącej wynikiem wytwarzania nadmiernej ilości tych związków, zarówno w wyniku samej otyłości, jak i infekcji wirusowej. Wyniki badań przeprowadzonych na szczurach wykazały, że gamma-oryzanol wpływał na ekspresję PPAR-gamma w tkance tłuszczowej redukując poziom cytokin i tym samym hamując stan zapalny. W związku z tymi obiecującymi doniesieniami upatruje się w gamma-oryzanolu potencjalnego kandydata do blokowania zjawiska „burzy cytokin” wywołanych podczas choroby COVID-19, w szczególności u osób z nadwagą [51].

Podsumowując, w diecie człowieka ważnym źródłem związków o właściwościach leczniczych i profilaktycznych są rośliny. Udokumentowano naukowo, że gamma-oryzanol (mieszanina fitosteroli, kwasu ferulowego i innych związków organicznych) wykazuje właściwości przeciwzapalne, antyoksydacyjne i hipocholesterolemiczne, co czyni go atrakcyjnym surowcem do produkcji tzw. żywości funkcjonalnej. Na rynku pojawia się coraz więcej suplementów diety oraz preparatów zawierających w swoim składzie gamma-oryzanol pochodzący z otrębów ryżowych zarówno dla zwierząt (np. Myozol TRM; Gamma-Oryzanol- Horse Line Pro, POKUSA) jak i ludzi (Gamma-oryzanol AMIX, Gamma E-kompleks, NOW).

PIŚMIENNICTWO

1. Morishima H, Hinata K, Oka H (1962) Comparison between two cultivated rice species. *Jap J Breeding* 12: 153-165
2. Lerma-Garcia M, Herrero-Martinez JM, Simó-Alfonso EF, Carla RB, Ramis-Ramos G (2009) Composition, industrial processing and applications of rice bran γ -oryzanol. *Food Chem* 115(2): 389-404
3. Silva MA, Sanches C, Amante ER (2006) Prevention of hydrolytic rancidity in rice bran. *J Food Engine* 75(4): 487-491
4. Priya RTS, Nelson ARL, Ravichandran K, Antony U (2019) Nutritional and functional properties of coloured rice varieties of South India: a review. *J Ethn Foods* 6: 1-11
5. Goufo P, Trindade H (2014) Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, c-oryzanol, and phytic acid. *Food Sci Nutr* 2(2): 75-104
6. Kumar JSP, Prasad RS, Banerjee R, Agarwal DK, Kulkarni KS, Ramesh KV (2017) Green solvents and technologies for oil extraction from oilseeds. *Chem Cent Journal* 11(9): strony?
7. Oliveira R, Oliveira V, Aracava KK (2012) Effects of the extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted with ethanol-a response surface approach. *Food Bioproces* 90: 22-31
8. Garba U, Singanusong R, Jiamyangyuen S, Thongsook T (2017) Extraction and utilization of rice bran oil: A review. The 4th International Conference on Rice Bran Oil 2017, Rice Bran Oil Application: Pharma-Cosmetics. *Nutr Foods* 24-25
9. Srikaeo K (2014) Organic Rice Bran Oils in Health W: Wheat and Rice in Disease Prevention and Health. Academic Press 453-465
10. Ito J, Sawada K, Ogura Y, Xinyi F, Rahmanian H, Mohri T, Kohyama N, Kwon E, Eitsuka T, Hashimoto H, Kuwehara S, Miyazawa T, Nakagawa K (2019) Definitive evidence of the presence of 24-methylene-cycloartanyl ferulate and 24-methylene-cycloartanyl cafeate in barley. *Sci Reports* 9: 12572
11. Mathew S, Abraham ET (2006) Bioconversions of Ferulic Acid, an Hydroxycinnamic Acid. *Critical Rev in Microbiol* 32: 115-125
12. Kumar N, Pruthi V (2014) Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotech Reports* 4: 86-93
13. Bento-Silva A, Vaz Patto MC, do Rosário Bronze M (2018) Relevance, structure and analysis of ferulic acid in maize cell walls. *Food Chem* 246: 360-378
14. Graf E (1992) Antioxidant potential of ferulic acid. *Free Radic Biol Med* 13(4): 435-448
15. Zhao Z, Moghadasian MH (2008) Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chem* 109(4): 691-702
16. Kulbacka J, Saczko J, Chwilkowska A (2009) Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek. *Pol Merk Lek* 27(57): 44
17. Moreau RA, Nyström, L, Whitaker BD, Winkler-Moser JK, Baer DJ, Gebauer SK, Hicks KB (2018) Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting uses. *Prog Lipid Res* 70: 35-61

18. Moreau RA, Whitaker BD, Hicks KB (2002) Phytosterols, phytosterols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Prog Lipid Res* 41: 457-500
19. Ferrer A, Altabella T, Arró M, Boronat A (2017) Emerging roles for conjugated sterols in plants. *Prog Lipid Res* 67: 27-37
20. Xu Z, Godber JS (1999) Purification and identification of components of gamma-oryzanol in rice bran Oil. *J Agric Food Chem* 47: 2724-2728
21. Szczęśniak KA, Ostaszewski P, Ciecierska A, Sadkowski T (2015) Investigation of nutractive phytochemical- gamma-oryzanol in experimental animal models. *J Anim Physiol Anim Nutr* 100: 601-617
22. Ogbé RJ, Ochalefu DO, Mafulul SG, Olaniru OR (2015) A review on dietary phytosterols: Their occurrence, metabolism and health benefits. *Asian J Plant Sci Res* 5(4): 10-21
23. Rawal G, Yadav S, Nagayach S (2015) Phytosterols and the health. *Med Res Chron* 2(3): 441-444
24. Plat JP, Mensink RP (2005) Plant stanol and sterol esters in the control of blood cholesterol levels: Mechanism and safety aspects. *Am J Cardiol* 96: 15-22
25. Brzeska MI (2016) Cała prawda o oksysterolach. *Postepy Nauk Tech Przemyslu Roln-Spozyw* 71(2): 77-96
26. Patel SB (2008) Plant Sterols and Stanols: Their Role in Health and Disease. *J Clin Lipidol* 2(2): 11-19
27. Użarowska M, Surman M, Janik M (2018) Dwie twarze cholesterolu: znaczenie fizjologiczne i udział w patogenezie wybranych schorzeń. *Kosmos* 67(2): 375-390
28. Gylling H, Simonen P (2015) Phytosterols, Phytosterols, and Lipoprotein Metabolism. *Nutrients* 2015(7): 7965-7977
29. Kopec A, Nowacka E, Piątkowska E, Leszczyńska T (2011) Charakterystyka i prozdrowotne właściwości steroli roślinnych. *Zywn Nauka Tech Jakosc* 3(76): 5-14
30. Ikonen H (2006) Mechanisms for Cellular Cholesterol Transport: Defects and Human Disease. *Physiol Rev* 86: 1237-1261
31. Son M, Baek A, Sakkiah S, Park C, John S, Lee KW (2013) Exploration of Virtual Candidates for Human HMG-CoA Reductase Inhibitors Using Pharmacophore Modeling and Molecular Dynamics Simulations. *PLoS ONE* 8(12): e83496
32. Golomb BA, Evans MA (2008) Statin Adverse Effects: A Review of the Literature and Evidence for a Mitochondrial Mechanism. *Am J Cardiovasc Drugs* 8(6): 373-418
33. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Brentano CF, Prescott E, Storey RF, Deaton C, Cuisset T, Agewall S, Dickstein K, Edwardsen T (2020) ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes The Task Force for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 41: 407-477
34. Plat J, Mensink RP (2002) Increased intestinal ABCA1 expression contributes to the decrease in cholesterol absorption after plant stanol consumption, *The FASEB J* 16: 1248-1253
35. Ostlund RE, McGill JB, Zeng C-M, Covey DF, Stearns J, Stenson WF, Spillburg CA (2002) Gastrointestinal absorption and plasma kinetics of soy Δ^5 -phytosterols and phytosterols in humans. *AJP Endocrinol Metab* 282: 911-916
36. Gylling H, Plat J (2014) Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 232: 346-360
37. Finosh GT, Jayabalan M (2013) Reactive oxygen species - Control and management using amphiphilic biosynthetic hydrogels for cardiac applications. *Adv Biosci Biotech* 4: 1134-1146
38. Nimse SB, Pal D (2015) Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv* 5: 27986-28006
39. Karpińska A, Gromadzka G (2013) Stres oksydacyjny i naturalne mechanizmy antyoksydacyjne- znaczenie w procesie neurodegeneracji. Od mechanizmów molekularnych do strategii terapeutycznych. *Postepy Hig Med Dosw (online)* 67: 43-53
40. Lin F, Lin J, Gupta RD, Tournas JA, Burch JA, Selim MA, Monteiro-Riviere NA, Grichnik JM, Zieliński J, Pinnell SR (2005) Ferulic Acid Stabilizes a Solution of Vitamins C and E and Doubles its Photoprotection of Skin. *J Invest Dermatol* 125(4): 826-832
41. Kiewlicz J, Szymusiak H, Zieliński R (2015) Otrzymywanie, stabilność termiczna i właściwości przeciwutleniające długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego. *Zywn Nauka Tech Jakosc* 4(101): 188-200
42. Liu R, Xu Y, Chang M, Tang L, Lu M, Liu R, Jin Q, Wang X (2021) Antioxidant interaction of α -tocopherol, γ -oryzanol and phytosterol in rice bran oil. *Food Chem* 343: 128431
43. Chen L, Hu JY, Wang SQ (2012) The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. *J Am Acad Dermatol* 67(5): 1013-1024
44. Rinnerthaler M, Bischof J, Streubel MK, Trost A, Richter K (2015) Oxidative Stress in Aging Human Skin. *Biomolecules* 5(2): 545-558
45. Kim SP, Kang MY, Nam SH, Friedman M (2012) Dietary Rice Bran Component γ -Oryzanol Inhibits Tumor Growth in Tumor-Bearing Mice. *Mol Nutr Food Res* 56(6): 935-944
46. Minatel IO, Francisqueti FV, Corrêa CR, Lima GPP (2016) Antioxidant Activity of γ -Oryzanol: A Complex Network of Interactions. *Int J Mol Sci* 17(8): strony?
47. Rungratanawanich W, Cenini G, Mastinu A, Sylvester M, Wilkening A, Abate G, Bonini SA, Aria F, Marziano M, Maccarinelli G, Memo M, Voos W, Uberti D (2019) γ -Oryzanol Improves Cognitive Function and Modulates Hippocampal Proteome in Mice. *Nutrients* 11(753): 1-15
48. Eslami S, Esa NM, Marandi SM, Ghasemi G, Eslami S (2014) Effects of gamma oryzanol supplementation on anthropometric measurements & muscular strength in healthy males following chronic resistance training. *Indian J Med Res* 139(6): 857-863
49. Chodkowska KA, Ciecierska A, Majchrzak K, Ostaszewski P, Sadkowski T (2018) Simultaneous miRNA and mRNA Transcriptome Profiling of Differentiating Equine Satellite Cells Treated with Gamma-Oryzanol and Exposed to Hydrogen Peroxide. *Nutrients* 10(1871): 1-21
50. Mitjà O, Clotet B (2020) Use of antiviral drugs to reduce COVID-19 transmission. *Lancet Glob Health* 8(5): 639-640
51. Francisqueti-Ferron FV, Garcia JL, Ferron AJT, Nakandakare-Maia ET, Gregolin CS, Silva JPDC, Dos Santos KC, Lo ÁTC, Siqueira JS, de Mattei L, de Paula BH, Sarzi F, Silva CCVA, Moreto F, Costa MR, Ferreira ALA, Minatel IO, Corrêa CR (2021) Gamma-oryzanol as a potential modulator of oxidative stress and inflammation via PPAR- γ in adipose tissue: a hypothetical therapeutic for cytokine storm in COVID-19. *Mol Cell Endocrinol* 520: 111095

Gamma-oryzanol as an example of a complex of phytosterol esters and ferulic acid with broad biological activity

Ewa Młodzinska-Michta[✉], Weronika Korzeniowska

Department of Plant Molecular Physiology, Faculty of Biological Science, Wrocław University

[✉]Corresponding author: ewa.mlodzinska-michta@uwr.edu.pl

Key words: ferulic acid, gamma-oryzanol, *Oryza sativa*, phytosterols, rice

ABSTRACT

Plants are natural laboratories producing a cornucopia of secondary metabolites of huge therapeutic potential. The oil extracted from rice bran, a by-product of brown rice processing, is abundant in valuable bioactive substances. One of its main ingredients is gamma-oryzanol that is a mixture of phytosterol esters and ferulic acid. These compounds exert a wide range of biological activities closely correlated with their chemical properties. Their hypocholesterolemic and antioxidant abilities are crucial for improving the physiology and condition of the human body. For these reasons, there has been a clear increase in the number of studies investigating the use of gamma-oryzanol in the treatment of many chronic diseases, and it is even tested as a promising non-pharmacological therapeutic agent in the treatment of COVID-19 in overweight people. This paper describes the chemical structure and activity of gamma-oryzanol based on biological activity of phytosterol esters and ferulic acid. It also discusses the effects of gamma-oryzanol on some physiological processes in the human and animal organisms.

