NaukiPrzyrodnicze
numer 01/2013

DOGMAT BIOLOGII MOLEKULARNEJ

PRZEGLĄD ANTYBIOTYKÓW DZIAŁAJĄCYCH NA POSZCZEGÓLNE ELEMENTY MASZYNERII TRANSLACYJNEJ

REDAKCJA:

REDAKTOR NACZELNY: *Mateusz Gortat*

ZASTĘPCA REDAKTORA NACZELNEGO: *Małgorzata Sęczkowska*

REDAKTOR TECHNICZNY: *Kamil Korzeniowski*

RADA REDAKCYJNA:

- *prof. dr hab. n. zoot. Bogusław Makarski*
- *dr inż. n. rol. Stanisław Korzeniowski*
- *dr inż. n. rol. Agnieszka Najda*
- *dr inż. chem. Marek Stankevič*
- *dr n. chem. Anna Stępniowska*
- *mgr biol. Mateusz Gortat*
- *mgr inż. arch. kraj. Kamila Rojek*
- *mgr chem. Małgorzata Sęczkowska*
- *lek. med. Łukasz Pastuszak*

PROJEKT OKŁADKI:

Robert Giza

REDAKCJA I OPRACOWANIE GRAFICZNE:

Kamil Korzeniowski

Mateusz Gortat

WYDAWCA:

Stowarzyszenie Studentów Nauk Przyrodniczych

ul. Akademicka 13

20-950 Lublin

ADRES DO KORESPONDENCJI

Stowarzyszenie Studentów Nauk Przyrodniczych

ul. Akademicka 13

20-950 Lublin

ssnp@poczta.pl

SPIS TREŚCI

JESIENNE WARZYWA I ICH WŁAŚCIWOŚCI PROZDROWOTNE – MATEUSZ GORTAT 3

DOGMAT BIOLOGII MOLEKULARNEJ. PRZEGLĄD ANTYBIOTYKÓW DZIAŁAJĄCYCH NA POSZCZEGÓLNE ELEMENTY MASZYNERII TRANSLACYJNEJ – KATARZYNA SZEWCZUK - KARPISZ 12

BIOLOGICZNA AKTYWNOŚĆ SURFAKTANTÓW KATIONOWYCH I SURFAKTANTÓW GEMINI – EWELINA KORZENIOWSKA 22

WARSTEWKI FOSFOLIPIDOWE MODYFIKOWANE ENZYMAMI – DIANA RYMUSZKA 26

STAN PRZEOBRAŻEŃ KRAJOBRAZU CMENTARZY POLSKICH NA PRZYKŁADZIE CMENTARZA PRZY UL. LIPOWEJ W LUBLINIE – MAGDALENA STRÓŻ 34

BUDOWA ORAZ WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWDROBNOUSTROJOWE WYBRANYCH MONOTERPENÓW ZNAJDUJĄCYCH SIĘ W ROŚLINACH – MATEUSZ GORTAT 41

TABLE OF CONTENTS

AUTUMN VEGETABLES AND THEIR HEALTH BENEFITS – MATEUSZ GORTAT.....3

MOLECULAR BIOLOGY DOGMA. OVERVIEW OF ANTIBIOTICS ACTING ON INDIVIDUAL ELEMENTS OF TRANSLATIONAL MACHINERY – KATARZYNA SZEWCZUK - KARPISZ 12

THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF CATIONIC SURFACTANTS AND GEMINI SURFACTANTS – EWELINA KORZENIOWSKA 22

PHOSPHOLIPID LAYERS MODIFIED BY ENZYME – DIANA RYMUSZKA 26

TRANSFORMATIONS OF THE LANDSCAPE OF POLISH CEMETERIES ILLUSTRATED WITH AN EXAMPLE OF THE CEMETERY ON LIPOWA STREET IN LUBLIN – MAGDALENA STRÓŻ 34

THE STRUCTURE AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF THE SELECTED MONOTERPENES FOUND IN PLANTS – MATEUSZ GORTAT 41

NaukiPrzyrodnicze

Numer 1 (1) 2013
Strony 3-11

MATEUSZ GORTAT

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu
Ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin
E-mail: mgortat@poczta.pl

JESIENNE WARZYWA I ICH WŁAŚCIWOŚCI PROZDROWOTNE

STRESZCZENIE

Warzywa są źródłem wielu wartościowych substancji o właściwościach prozdrowotnych. W okresie jesiennym zbierane są czosnek, cebula, kapusta biała i czerwona, brukselka, burak ćwikłowy oraz ziemniaki. W pracy omówiono działanie prozdrowotne wyżej wymienionych warzyw oraz ich skład chemiczny. Celem pracy jest przybliżenie konsumentom wartości dietetycznych i prozdrowotnych wybranych warzyw.

Słowa kluczowe: warzywa, czosnek, cebula, burak ćwikłowy, kapusta, ziemniak, wartość prozdrowotna.

AUTUMN VEGETABLES AND THEIR HEALTH BENEFITS

SUMMARY

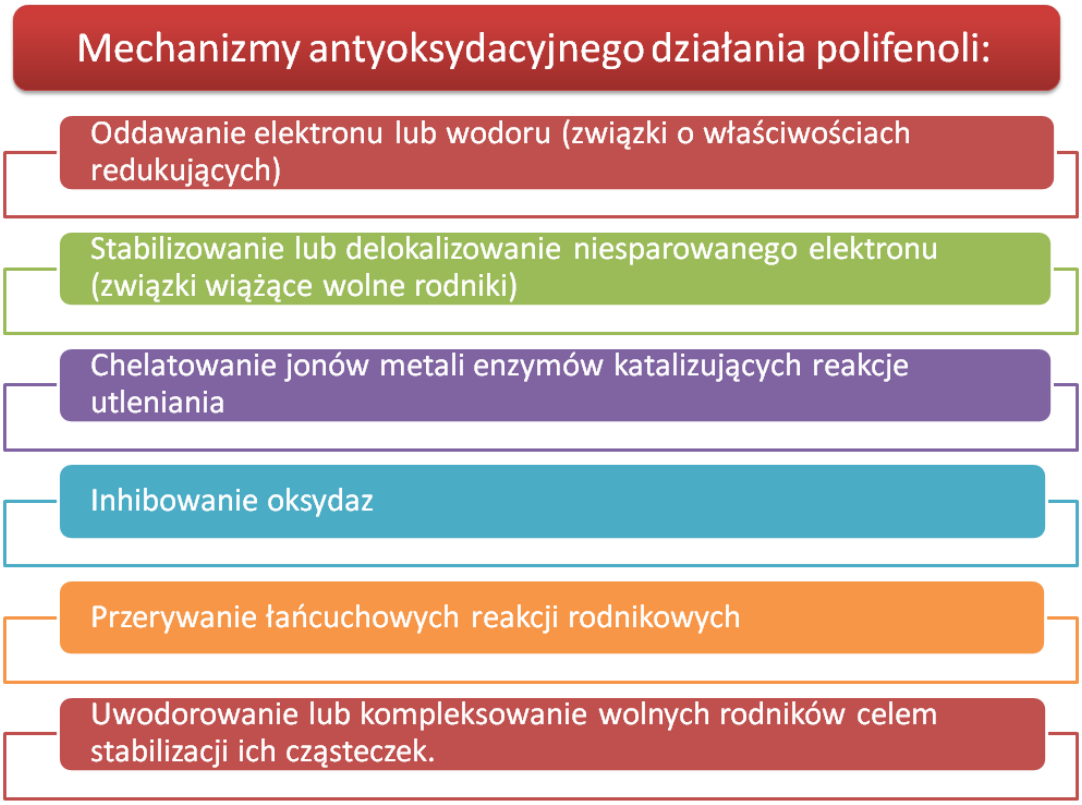
Vegetables are a source of many valuable substances with healthy. In the autumn harvested garlic, onion, red and white cabbage, Brussels sprouts, beetroot and potatoes. This paper will discuss the operation of the health benefits of vegetables and chemical composition.

Keywords: vegetables, garlic, onions, beetroot, cabbage, potato, pro-health.

WSTĘP

Warzywa odgrywają istotną rolę w diecie człowieka a ich spożycie jest wysoce zalecane (WOŁOSIAK I MIŁOSZ, 2012). Stanowią one bardzo ważny element codziennej diety. Zalicza się je do grupy produktów spożywczych charakteryzujących się niską kalorycznością, bogactwem włókna pokarmowego oraz elementów mineralnych i witamin. Substancje te korzystnie wpływają na metabolizm organizmu oraz wspomagają układ odpornościowy (VALLEJO I IN., 2002; SZAJDEK I BOROWSKA, 2004; SINGH I IN., 2007; GHERIBI, 2011). Warzywa oprócz witamin oraz elementów mineralnych, zawierają polifenole, które mają znaczący wpływ na organizm ludzi. Związki fenolowe, ze względu na strukturę pierścienia podstawowego, dzieli się na fenolokwasy i flawonoidy (CIEŚLIK, 2007; MILLER I IN.,2008). Warzywa są również bogatym źródłem błonnika po-

karmowego, który korzystnie wpływa na przewód pokarmowy i ułatwia trawienie (KOMOLKA I GÓRECKA, 2012). Działanie biologiczne na organizm związków zawartych w warzywach jest wielokierunkowe (SZAJDEK I BOROWSKA, 2004). W ostatnich latach podkreśla się antyoksydacyjne właściwości warzyw. Za najważniejsze antyoksydanty znajdujące się w warzywach uważa się kwas askorbinowy i związki fenolowe (BUDRYN I NEBESNY, 2006; GRAJEK, 2007). Aktywność antyoksydacyjna polifenoli obecnych w warzywach polega na różnych mechanizmach ich działania. Mechanizmy działania polifenoli przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Mechanizm antyoksydacyjnego działania polifenoli (PANCZENKO-KRESOWSKA, 1997; RICE-EVANS I IN., 1997; WILSKA-JESZKA, 1999; GRAJEK, 2004; CYBUL I NOWAK, 2008)

Według PODSĘDEK I SOSNOWSKIEJ (2007) najbogatszym źródłem polifenoli są warzywa kapustne (kapusta czerwona, brokuły), warzywa cebulowe (cebula, czosnek), warzywa korzeniowe (burak ćwikłowy), warzywa psiankowe (papryka czerwona). W tabeli 1 przedstawiono zawartość wybranych substancji chemicznych o działaniu biologicznym w poszczególnych warzywach. Większość warzyw dostępna jest na rynku przez cały rok. W okresie jesiennym zbierane są takie rośliny jak: kapusta głowiasta biała i czerwona, kapusta brukselska, marchew, pietruszka, seler korzeniowy, burak ćwikłowy, cebula zwyczajna, czosnek, por, dynia zwyczajna oraz ziemniaki (KOŁOTA, 1994; STACHOWICZ, 2011).

Gatunek warzywa	Polifenole (mg/100g)	Witamina C (mg/100g)	Zamiatanie DPPH EC_{50} (mg)
Burak czerwony	62,32	4,12	15,00
Cebula	45,81	2,82	2,49
Czosnek	36,10	5,81	33,10
Kapusta biała	18,99	17,13	122,70
Kapusta brukselska	78,12	72,49	7,80
Marchew	1,16	3,41	267,20
Pietruszka korzeniowa	29,84	19,89	131,50
Seler korzeniowy	5,74	5,69	232,50
Ziemniaki	28,67	3,02	110,30
Wyniki podano w przeliczeniu na 100g świeżej masy części jadalnych			

Tab. 1. Zawartość polifenoli, witaminy C oraz zdolności do zamiatania rodnika DPPH (BOROWSKI I IN., 2008; DYDUCH I NAJDA, 2008)

CZOSNEK (*ALLIUM SATIVUM* L.) I CEBULA (*ALLIUM CEPA* L.)

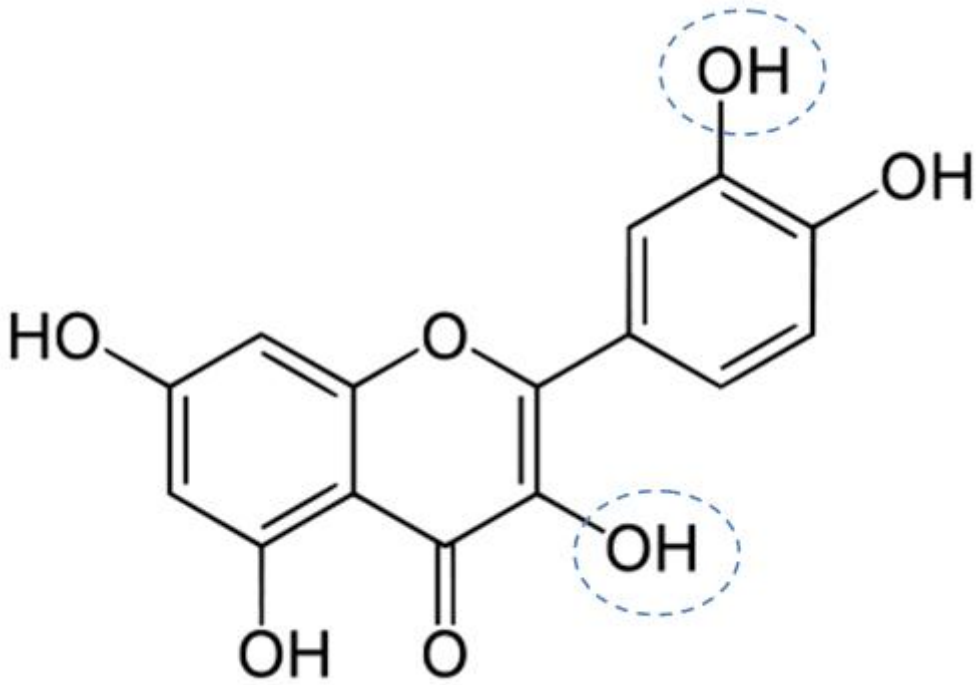
Wartość na 100g części jadalnej	
Wilgotność – 86,6%	Składniki mineralne – 0,6%
Białko – 1,2%	Fosfor – 50 mg
Cukry – 11,1%	Żelazo – 0,7 mg
Tłuszcz – 0,1%	Wapń – 47 mg
Włókno – 0,4%	Witamina C – 11 mg

Tab. 2. Średnia zawartość wybranych składników w czosnku (na podstawie: AMBROSE I SREENARAYANAN, 1998)

W skład czosnku wchodzą siarczki, dwusiarczki i trójsiarczki allilowe oraz metylowe, tiole, tiosulfinaty i enzymy (m.in. allinaza, arginaza, tyrozynaza). Ponadto roślina ta zawiera glikozydy, flawonoidy, cukrowce, pektyny oraz fitosterole (LUTOMSKI 1987, KWIATKOWSKA 2009). Skład czosnku przedstawiono schematycznie w tabeli 2. Do fitosteroli zaliczamy lignany, których zawartość w czosnku określa się na 4-1 mg/kg (THOMPSON I IN., 1991). Cebula ma podobne właściwości prozdrowotne jak czosnek (BALICK I PAUL, 1996). Zawiera ona związki siarkowe, saponiny, związki śluzowe, pektyny, witaminy C, B, E, K (SENDERSKI, 2004). Średnią zawartość wybranych składników cebuli przedstawiono w tabeli 3. W medycynie ludowej syrop z cebuli stosowany był powszechnie w suchym kaszlu i innych dolegliwościach dróg oddechowych. Ponadto spożywanie cebuli normalizuje ciśnienie tętnicze krwi. Związki siarkowe zawarte w cebuli i czosnku hamują również rozwój grzybicy (KUMAR I IN., 2010). Roślina ta jest dobrym źródłem flawonoidów, w śród nich na uwagę w cebuli zasługuje kwercetyna o podobnych właściwościach jak rutyna (SANDERSKI, 2004). W cebuli czerwonej koncentracja kwercetyny waha się od 117,4 do 1917 mg/kg. Wzór chemiczny kwercetyny przedstawiono na rysunku 4. Cebula szalotka zawiera znacznie mniej kwercetyny, w granicach 53,4 - 1187 mg/kg (SZAJDEK I BOROWSKA, 2004). Spożywanie cebuli może również pomóc w walce z podwyższonym poziomem cholesterolu we krwi (SANDERSKI, 2004; KUMAR, 2010). Wybrane właściwości czosnku i cebuli przedstawiono na rysunku 5.

Składnik	Zawartość (%)
Woda	63,00
Węglowodany	28,60
Białko	6,40
Tłuszcz	0,06
Związki siarkowe	0,07
Potas	0,40
Fosfor	0,10
Wapń	0,10
Witamina C	0,02

Tab. 3. Średnia zawartość wybranych składników w cebuli (na podstawie: KUMAR I IN., 2010)



Rys. 4. Wzór chemiczny kwercetyny (linią przerywaną zaznaczono miejsce występowania charakterystycznych grup dla tego związku)

Źródła	• Działanie lecznicze i profilaktyczne
Ide i Lau, 1997 Kościelny i in., 1999	• Korzystny wpływ na gospodarkę lipidową • Przeciwdziała arteriosklerozie
Borek, 2001 Ashraf i in., 2004	• Działa antyoksydacyjnie • Poprawia właściwości naczyń krwionośnych.
Apitz-Castro i in., 1992 Fazlolahzadeh i in., 2011	• Wpływa na wskaźniki hematologiczne krwi
Chisty i in., 1996 Benkeblia, 2004	• Wspomaga odporność organizmu • Działa antybakteryjnie
Ugwu i Omale, 2011	• Właściwości hepatoochronne
Chutani i Bordia, 1981	• Działa fibrynolitycznie
Milner, 2001	• Wykazuje właściwości przeciwnowotworowe

Rys. 5. Wybrane właściwości czosnku i cebuli, które mogą mieć zastosowanie w lecznictwie

WARZYWA KAPUSTNE

Warzywa z rodziny *Brassicaceae* są bogatym źródłem licznych substancji wykazujących właściwości lecznicze. Oprócz przeciwnowotworowych glukozylanów w kapuście znajdują się przeciwutleniacze (witamina C i E, polifenole) (LEJA I IN., 2010; NOSEK I IN., 2011). Zawartość wybranych witamin z roślinach kapustowatych przedstawiono w tabeli 4.

Kapusta czerwona (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*) jest źródłem cennych substancji, których spożycie jest korzystne dla zdrowia konsumenta. Wiele z nich wykazuje silne działanie antyoksydacyjne. W warzywie tym znajdują się również antocyjany - bardzo ważna grupa związków biologicznie czynnych (LEJA I IN., 2005). Antocyjany są to barwniki występujące w roślinach i zaliczane są do flawonoidów (CLIFFORD, 2000). Antocyjany znajdujące się w czerwonej kapuście mają głęboko fioletowy kolor (MOSIEWICZ, 2002). W zależności od obecności grup bocznych antocyjany mogą mieć różne natężenie koloru (od czerwonego do fioletowego) (SALUK-JUSZCZAK, 2010). Spożywanie pokarmów bogatych w antocyjany jest powiązane z mniejszym ryzykiem wystąpienia chorób cywilizacyjnych (CLIFFORD, 2000). Związki te uszczelniają naczynia krwionośne, stymulują odporność organizmu, chronią mięsień sercowy (LAI I ROY, 2004; KAY I IN., 2006). Antocyjany z czerwonej kapusty dzięki znacznej acylacji cząsteczek, charakteryzują się największą odpornością na zmiany pH, przez co zachowują swoją biologiczną aktywność przy szerokim zakresie pH (MCDUGALL I IN., 2007).

Biała kapusta (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) jest zaliczana do warzyw wykorzystywanych w diecie

chemoprewencyjnej. Jest to związane z obecnością w niej glukozylanów (GLS), których produkty rozpadu są dolne do modulowania enzymów I i II fazy biotransformacji ksenobiotyków. GLS hamuje wzrost komórek nowotworowych oraz stymuluje apoptozę komórek nowotworowych (PRESTERA I IN., 1993; NUGON-BAUNDON I RABOT, 1994; JOHNSON, 2002).

Innym warzywem należącym do rodziny Brassicaceae, wartym uwagi konsumentów jest kapusta (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*) popularnie zwana brukselką. Zawiera ona najwięcej błonnika z warzyw zaliczanych do kapustowatych. Jest również bogatym źródłem potasu i wapnia oraz substancji biologicznie czynnych w tym glukozylanów (SIKORSKA-ZIMNY, 2010).

Nazwa warzywa	Wit. A	B-karoten	Wit. E	Wit. B_1	Wit. B_2	Wit. C
	$\mu g \cdot 100g^{-1}$		$mg \cdot 100g^{-1}$			
Kapusta biała	9	52	1,670	0,072	0,060	48,0
Kapusta czerwona	3	15	1,700	0,099	0,073	54,0
Brukselka	74	447	0,880	0,080	0,160	94,0

Tab. 4. Zawartość wybranych witamin w poszczególnych warzywach kapustowatych (SIKORSKA-ZIMNY, 2010)

BURAK ĆWIKŁOWY (*BETA VULGARIS* VAR. *RUBRA*)

To powszechnie uprawiane w Polsce warzywo jest źródłem bardzo cennej substancji - betacyjaniny. Niewiele występujących w Polsce roślin zawiera ten czerwono-fioletowy barwnik (KLEWICKA, 2012). W badaniach naukowych wykazano, że barwnik ten kształtuje właściwości antyoksydacyjne buraka ćwikłowego. W badaniach in vitro KLEWICKA (2010) wykazała, że zawarte w buraku betacyjaniny wykazywały znaczącą aktywność antymutagenną. Może to świadczyć o przeciwnowotworowych właściwościach buraka ćwikłowego. W eksperymencie prowadzonym na komórkach białaczki wykazano, że betacyjnanina ma zdolność wnikania do komórek nowotworowych gdzie może indukować proces apoptozy. Efektem tego jest zahamowanie namnażania się komórek dotkniętych chorobą (SREEKANTH I IN., 2007). Regularne spożywanie buraków ćwikłowych, bogatych w betacyjaniny, może minimalizować częstotliwość występowania chorób degeneracyjnych, powstających w wyniku uszkodzenia strukturalnego komórek w tkankach narządów (KLEWICKA, 2012).

ZIEMNIAKI (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)

Niewątpliwie najczęściej spożywanym przez Polaków warzywem jest ziemniak (NOWAK, 2004). Ze względu na duże spożycie ziemniaków, są one jednym z podstawowych źródeł witaminy C w diecie (RYTEL I LISIŃSKA, 2007). Jest to istotne zwłaszcza w okresie zimowym, gdy dostępność świeżych owoców i warzyw jest mniejsza (NOWAK, 2004). Porcja 200g ziemniaków pokrywa dzienne zapotrzebowanie na witaminę C nawet do 50% (RYTEL I LISIŃSKA, 2007). Zawartość poszczególnych związków w bulwie ziemniaka jest cechą odmianową (NOWACKI, 2002). Procentowa zawartość wody w ziemniaku kształtuje się na poziomie 75-95% (GREMBECKA I IN., 2008). Zawartość białka w ziemniakach wynosi 1,7-2,3% (PĘKAS, 2003). Białko ziemniaczane jako jedno z nielicznych białek roślinnych zawiera odpowiednie ilości wszystkich aminokwasów egzogennych.

Cechuje go wartość biologiczną porównywalna z białkiem zwierzęcym (LESZCZYŃSKI, 1994). Spożywając ziemniaki należy jednak pamiętać, że mogą one zawierać glikoalkaidy w tym głównie solaninę, której ilość wzrasta wraz z okresem przechowywania. Gdy poziom tych substancji przekroczy 20mg% są one niebezpieczne dla zdrowia ludzi (KAWAKAMI I IN., 2000).

LITERATURA

WOŁOSIAK R., MIŁOSZ K. 2012. *Porównanie wybranych soków marchwiowych i pomidorowych.* At. Chem. Toksykol. XLV, 2012, 3, 711–716.

CIEŚLIK E.: *Występowanie przeciwutleniaczy w owocach jagodowych.* 2007. [w:] *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne technologiczne molekularne i analityczne.* Red. Grajek W., WNT, Warszawa, 201-204.

VALLEJO F., TOMAS-BARBERÁN F.A., GARCIA-VIGUERA C. 2002. *Potential bioactive cmpounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain.* J. Sci. Food Agric. 82: 1293-1297.

SZAJDEK A., BOROWSKA E.J. 2004. *Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego.* Żywność. 41, 1-24.

SINGH J., UPADHYAY A.K., PRASAD K., BAHADUR A., RAI M. 2007. *Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in Brassica vegetables.* J. Food Compos. Analys. 20: 106-112.

KOMOLKA P., GÓRECKA D., 2012. *Wpływ obróbki termicznej warzyw kapustnych na zawartość błonnika pokarmowego.* Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2 (81), 68 – 76.

BUDRYN G., NEBESNY E., 2006. *Fenolokwasy – ich właściwości, występowanie w surowcach roślinnych, wchłanianie i przemiany metaboliczne.* Bromat. Chem. Toksykol. 39(2): 103-110.

GRAJEK W. (red.), 2007. *Przeciwutleniacze w żywności, aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne.* WNT, Warszawa.

CYBUL M., NOWAK R., 2008. *Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych.* Herba Polonica. Vol. 54 No. 1. 68-78.

GRAJEK W., 2004. *Rola przeciwutleniaczy w zmniejszaniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia.* Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. 2004. 1(38). 3-11.

RICE-EVANS CA, MILLER NJ, PAGANGA G., 1997. *Antioxidant properties of phenolic compounds.* Trends. Plant. Sci. 2(4):152-9.

PANCZENKO-KRESOWSKA B., 1997. *Wolne rodniki a żywienie.* Wiad. Ziel. 10:17-18.

WILSKA-JESZKA J., 1999. *Struktura i właściwości antyoksydacyjne polifenoli.* Materiały II Konf. Nauk. „Żywność a Zdrowie". Łódź. 27-36.

PODSĘDEK A, SOSNOWSKA D., 2007. *Występowanie związków polifenolowych w warzywach.* Przeciwutleniacze w żywności: aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne, red. GRAJEK W, Wydawnictwa Naukowo - Techniczne. 151-157. KOŁOTA E., 1994. Warzywnictwo. WAR. Wrocław.

STACHOWICZ T., 2011. *Uprawa ziemniaka w gospodarstwach ekologicznych.* Wyd. Centrum Doradztwa Rolniczego w Broniewie. Radom.

BOROWSKI J., SZAJDEK A., BOROWSKA E.J., 2008. *Charakterystyka chemiczna i aktywność biologiczna warzyw z terenu Olsztyna.* Chem. Toksykol. XLI, 3, 333–337.

LUTOMSKI J., 1987: *Components and biological properties of some Allium species*. Poznań, Inst. Med. Plants.

KWIATKOWSKA E., 2009. *Fitoestrogeny – rola prozdrowotna i zawartość w produktach.* Postępy fitoterapii. 2, 107-112.

THOMPSON L.U., ROBB P., SERRAINO M. i wsp., 1991. *Mammalian lignan production from various foods*. Nutrition and Cancer. 16, 43-52.

KUMAR K.P.S., BHOWMIK D., CHIRANJIB, BISWAJIT, TIWARI P., 2010. *Allium cepa: A traditional medicinal herb and its health benefits*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2(1). 283-291.

SENDERSKI M.E., 2004. *Prawie wszystko o ziołach.* Podkowa Leśna.

BALICK M.J., PAUL A.C., 1996. *Plants that heal. In their plants, people, and culture; the science of ethnobotany*. New York, Scientific American Library, 25-61.

IDE N., LAU B.H., 1997. *Garlic compounds protect vascular endothelial cells from oxidized low density lipoprotein-induced injury*. J of Pharmacol., 49(9), 908–911.

KOSCIELNY J., KLUSSENDORF, D., LATZA, R., 1999. *The anti-atherosclerotic effect of Allium sativum.* Atherosclerosis., 144, 237–249.

BOREK C. 2001. *Recent advances on the nutritional effects associated with the use of garlic as a supplement: Antioxidant health effects of aged garlic extract.* Amer Soc for Nutr Sci., 131, 1010s-1015s.

ASHRAF M.Z., HUSSAIN M.E., FAHIM M., 2004. *Endothelium mediated vasorelaxant response of garlic in isolated rat aorta: role of nitric oxide*. J of Ethnopharm., 90(1), 5–9.

APITZ-CASTRO R., BADIMON J.J., BADIMON L., 1992. *Effect of ajoene, the major antiplatelet compound from garlic, on platelet thrombus formation.* Thrombo Res., 68(2), 145–155.

FAZLOLAHZADEH F., KERAMATI K., NAZIFI S., SHIRIAN S., SEIFI S., 2011. *Effect of garlic (Allium sativum) on hematological parameters and plasma activities of ALAT and ASAT of rainbow trout in temperature stress*. Austr J of Basic and Appl Sci., 5(9), 84-90.

CHISTY M., QUDDUS R., ISLAM B., KHAN B., 1996. *Effect of onion extract on immune response in rabbits*. Bangladesh Med Res Council Bulletin, 22, 81–85.

BENKEBLIA N., 2004. *Antimicrobial activity of essential oils extracts of various onions (Allium cepa) and garlic (Allium sativum)*. Lebensmitted wissenchaft und - Technologie, 37, 263–268.

CHUTANI S.K., BORDIA A., 1981. *The effect of fried versus raw garlic on fibrinolytic activity in man*. Atherosclerosis, 38(3-4), 417–421.

MILNER J.A., 2001. *A historical perspective on garlic and cancer*. J of Nutri, 131(3s), 1027S-1031S.

UGWU C.E., OMALE J., 2011. *Comparative effects of aqueous garlic (Allium sativum) and onion (Allium cepa) extracts on some haematological and lipid indices of rats*. Annl. Rev. and Res. in Biol., 1(3), 37–44

AMBROSE DCP, SREENARAYANAN VV., 1998. *Studies on the dehydration of garlic*. J Food Sci Technol; 35, 242-4.

LEJA M., WYŻGOLIK G., MARECZEK A., 2005. *Phenolic compounds of red cabbage as related to different forms of nutritive nitrogen. Hortic*. Veg. Grow. 24, 3: 421-428.

CLIFFORD M.N., 2000. *Anthocyanins - nature, occurrence and dietary burden.* J. Sci. Food Agric., 80: 1063–1072.

SALUK-JUSZCZAK J., 2010. *Antocyjany jako składnik żywności funkcjonalnej stosowanej w profilaktyce chorób układu krążenia.* Postępy Hig. Med. Dośw., tom 64. 451-458.

KAY C.D., KRIS-ETHERTON P., West S.G., 2006. *Effects of antioxidant-rich foods on vascular reactivity: review*

ofthe clinical evidence. Curr. Atheroscler. Rep., 8: 510–522.

LAI P.K., ROY J., 2004. *Antimicrobialand chemopreventive properties of herbs and spices*. Curr. Med. Chem., 11:1451–1460.

MCDOUGALL G.J., FYFFE S., DOBSON P., STEWART D., 2007. *Anthocyanins from red cabbage-stability to simulated gastrointestinal digestion.* Phytochem., 68: 1285–1294.

MOSIEWICZ R., 2002. *Antocyjany – zdrowa alternatywa.* Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2, 1- 2.

LEJA M., KAMIŃSKA I., KOŁTON A., 2010. *Phenolic compounds as the major antioxidants in red cabbage*. Folia Horticulturae Ann. 22/. 19-24.

JOHNSON I. T., 2002. *Glucosinolates in the human diet. Bioavailability and implications for health.* Phytochemistry Review, 1, 183–188.

NUGON-BAUNDON L., RABOT S., 1994. *Glucosinolates and glucosinolate derivatives: Implications for protection against chemical carcinogenesis.* Nutrition Research Review, 7, 205–231.

PRESTERA T., ZHANG Y., SPENCER S. R., WILEZAK C., TALALY P., 1993. *The electrophile counterattack response: Protection against neoplasia and toxicity.* Advances in Enzyme Regulation, 33, 281–296.

NOSEK M., SURÓWKA E., CEBULA S., LIBIK A., GORAJ S., KORNAS A., MISZALSKI Z., 2011. *Distribution pattern of antioxidants in white cabbage heads (Brassica oleracea L. var. capitata f. alba).* Acta. Physiologiae Plantarum. Vol. 33 is. 6. 2125-2134.

SIKORSKA-ZIMNY K., 2010. *Składniki prozdrowotne w warzywach kapustowatych*. Nowości warzywnicze. Tom 51 (6), 51-63.

KLEWICKA E., 2012. *Betacyjaniny-biodostępność i biologiczna aktywność.* ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość. 2 (81), 5 – 21.

KLEWICKA E., 2010. *Fermented beetroot juice as a factor limiting chemical mutation induced by MNNG in Salmonella typhimurium TA98 and TA 100 strains.* Food Technol. Biotechnol., 48 (2), 229-233.

SREEKANTH D., ARUNASREE M.K. ROY K.R., REDDY T.CH. REDDY G.V., REDDANNA P., 2007. *Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of Opuntia ficus-indica induces apoptosis in human chronic myeloid leucemia cell line-K562*. Phytomedicine. 14, 739-746.

NOWAK R., 2004. *Natura- niedocenione źródło kwasu askorbinowego*. Post. Fito. 1. 14-18.

RYTEL E., LISIŃSKA G., 2007. *Zmiany zawartości witaminy c w bulwach ziemniaka podczas gotowania i przetwarzania na produkty smażone i suszone*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. 6 (55), 186 – 197.

NOWACKI W., 2002. *Parametry jakości ziemniaka konfekcjonowanego – genetyczne i środowiskowe ich uwarunkowania.* Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 489, 335-345.

GREMBECKA M., SZEFER P., GURZYŃSKA A., DYBEK K., 2008. *Ocena jakości zdrowotnej wybranych warzyw na podstawie ich składu pierwiastkowego.* T. Chem. Toksykol. – XLI. 3, 328–332.

LESZCZYŃSKI W., 1994. *Ziemniak jako produkt spożywczy.* Post. Nauk Rol. 1, 15-29.

PĘKSA A., 2003. *Białko ziemniaczane – charakterystyka i właściwości*. Post. Nauk Rol. 5, 79-94.

KAWAKAMI S, MIZUNO M, *et al.* (2000). *Comparison of antioxidant enzyme activities between Solanum tuberosum L. Cultivars Danshaku and Kitaakari during low-temperature storage.* J. Agric. Food Chem. 48 (6): 2117-21.

DYDUCH J., NAJDA A. 2008. *Fitochemical composition of garlic leaves groving under covering*. Allium Improvement Newsletter, Madison USA, vol. 18: 1-4.

NaukiPrzyrodnicze

Numer 1 (1) 2013
Strony 12-21

KATARZYNA SZEWCZUK - KARPISZ

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Chemii
Zakład Radiochemii i Chemii Koloidów
Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin, tel. (81) 5375622
E-mail: k.szewczuk-karpisz@wp.pl

DOGMAT BIOLOGII MOLEKULARNEJ

PRZEGLĄD ANTYBIOTYKÓW DZIAŁAJĄCYCH NA POSZCZEGÓLNE ELEMENTY MASZYNERII TRANSLACYJNEJ

STRESZCZENIE

Biosynteza białek to skomplikowany proces niezbędny do życia każdej komórce. Zachodzi on przy udziale rybosomów – organelli złożonych z białek oraz kwasów rybonukleinowych, a także wielu czynników translacyjnych. Informacja o każdym syntetyzowanym białku jest zawarta w kodzie genetycznym. Dokładne i wierne przepisanie sekwencji nukleotydowej DNA poprzez sekwencję mRNA na język aminokwasów jest niezbędne do prawidłowego funkcjonowania nowo syntetyzowanego białka. Ze względu na wielkie znaczenie procesu biosyntezy białek dla komórki maszyneria translacyjna jest często celem antybiotyków posiadających właściwości bakteriobójcze lub bakteriostatyczne.

W pracy dokonano przeglądu antybiotyków oddziałujących na wybrane miejsca aktywne rybosomów, tj. centrum dekodujące, centrum peptydylotransferazy oraz kanał wyjścia. Pełne zrozumienie mechanizmu działania opisanych substancji bakteriobójczych nie jest możliwe bez wcześniejszego poznania podstawowych zasad przepisywania informacji genetycznej, a także budowy rybosomów. Dlatego też, pracę tę uzupełniono o powyższe wiadomości.

Słowa kluczowe: translacja, rybosom eukariotyczny, antybiotyki, przepisywanie informacji genetycznej.

MOLECULAR BIOLOGY DOGMA

OVERVIEW OF ANTIBIOTICS ACTING ON INDIVIDUAL ELEMENTS OF TRANSLATIONAL MACHINERY

SUMMARY

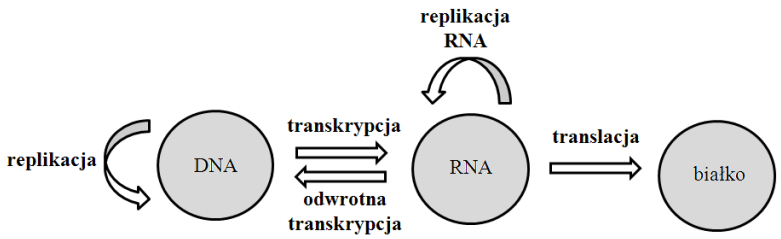
Protein biosynthesis is a complex process essential for every cell life. It occurs with the participation of ribosomes - organelles consisting of proteins and ribonucleic acids, as well as many translational factors. Information about each synthesized protein is contained in the genetic code. Precise and accurate transfer of DNA nucleotide sequence through mRNA into amino acids sequence is necessary for correct functioning of newly synthesized protein. Due to the protein biosynthesis importance, translational machinery is often the target for antibiotics having bactericidal or bacteriostatic properties.

In the paper the review of selected antibiotics acting on the ribosome active sites, i.e. decoding center, peptidyl-transferase center and exit channel, is presented. However, full understanding of antibiotics action mechanism is not possible without prior study of the basic principles of genetic information transfer as well as the ribosome structure. Therefore, this paper has been completed with the above information.

Keywords: translation, eucaryotic ribosome, antibiotics, genetic information transfer.

WSTĘP

W latach 50. XX wieku Francis Crick zaproponował kierunek przepisywania informacji genetycznej, tj. z DNA poprzez RNA na białka. W ten sposób powstał główny dogmat biologii molekularnej mówiący, że „z DNA powstają cząsteczki RNA, z których tworzą się białka" (TURNER i współaut. 2007). Jednakże, z biegiem lat stwierdzono, że istnieją pewne modyfikacje przedstawionego przepływu informacji genetycznej. Przykładowo, u retrowirusów (do których zaliczono wirus HIV) istnieje możliwość przepisania informacji z jednoniciowej cząsteczki RNA na dwuniciową cząsteczkę DNA. Jest to proces odwrotnej transkrypcji, zachodzący przy udziale enzymu określonego jako odwrotna transkryptaza (ZHENG i współaut. 2005). Ponadto, istnieje możliwość replikacji RNA m.in. u wirusów zapalenia wątroby typu C (BARTENSCHLAGER i LOHMANN, 2000). Podstawowy przepływ informacji genetycznej wraz z jego modyfikacjami przedstawiono na rysunku 1.

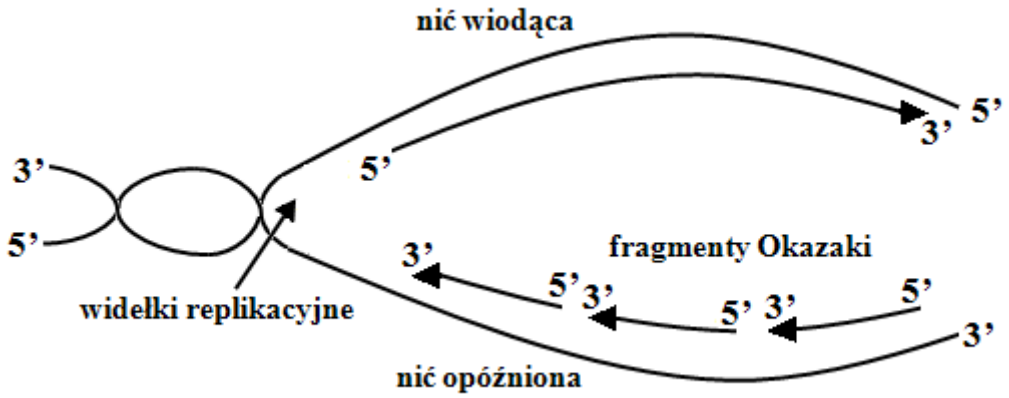


Rys. 1. Schemat dogmatu biologii molekularnej.

Replikacja to proces powielania materiału genetycznego, w który są zaangażowane specyficzne enzymy. W przypadku replikacji DNA proces zaczyna się od rozwinięcia dwuniciowej helisy w miejscu określanym jako widełki replikacyjne. Następnie do każdej nici zostaje dobudowana nowa komplementarna nić według reguły parowania zasad (tj. adenina z tyminą, cytozyna z guaniną). Synteza obu nici zachodzi jednocześnie, jednakże mechanizm ich tworzenia jest odmienny. Tzw. nić wiodąca jest syntetyzowana w sposób ciągły w kierunku od 5' do 3'. Druga nić macierzysta określona jako nić opóźniona, jest tworzona w kierunku przeciwnym do miejsca inicjacji w postaci tzw. fragmentów Okazaki. Jej kopiowanie rozpoczyna się, gdy wskutek rozplatania dwuniciowej cząsteczki DNA powstaje odcinek o długości ok. 100-200 nukleotydów (*Eucaryota*). Po ukończeniu syntezy nici opóźnionej fragmenty Okazaki są łączone w jedną cząsteczkę DNA przy udziale ligazy DNA. (HAMES i HOOPER, 2006). Uproszczony schemat przedstawiający mechanizm replikacji przedstawiono na rysunku 2.

Proces przepisywania informacji genetycznej z cząsteczek DNA na cząsteczki RNA to transkrypcja. Podobnie jak replikacja oparta jest na regule parowania zasad, z tym że zamiast tyminy do cząsteczki RNA wbudowywany jest uracyl. Pojedyncza nić RNA tworzona jest w kierunku od 5' do 3' na postawie jednej z nici (tzw. nici sensownej) helisy DNA. Transkrypcja jest przeprowadzana przez polimerazę RNA, która wiąże się ze specyficznymi sekwencjami DNA w pobliżu końca 5'. W organizmach eukariotycznych występują trzy rodzaje tego enzymu, które przeprowadzają transkrypcję różnych genów. Enzymy te wykazują odmienną odporność na toksynę obecną w grzybach – α-amanitynę. W trakcie procesu transkrypcji helisa DNA ulega lokalnemu rozwinięciu. Terminacja procesu zachodzi przy udziale struktury typu „spinki do włosów" lub czynnika białkowego zwanego Rho (BROWN, 2001).

Ostatnim etapem przepływu informacji genetycznej jest proces translacji. Jest to wysoce skomplikowany proces syntezy białek, w który zaangażowane są m.in. organella komórkowe zwane rybosomami (KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ, 2002).



Rys. 2. Schemat replikacji DNA.

CHARAKTERYSTYKA RYBOSOMÓW

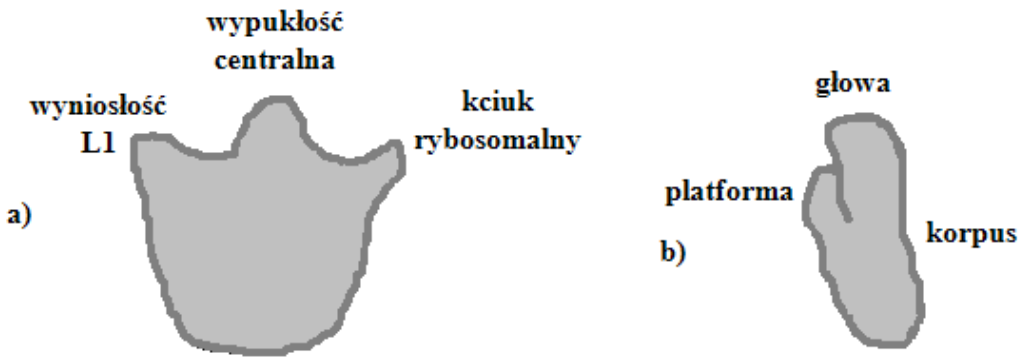
Rybosomy to rybonukleoproteinowe kompleksy obecne zarówno w komórce prokariotycznej, jak i eukariotycznej. Ich ilość jest skorelowana z aktywnością metaboliczną komórki i wynosi ok. 20 000 w komórce *E. coli* i ok. 100 000 w retykulocytach królika (KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ, 2002). Rybosomy biorą czynny udział w procesie biosyntezy białka. Występują w cytoplazmie jako struktury wolne lub związane z siateczką śródplazmatyczną (BERG i współaut. 2007). Organella te po raz pierwszy zaobserwowano w mikroskopie świetlnym na początku XX wieku. Struktura i wielkość rybosomów zostały określone na podstawie wyników badań Svedberga (BROWN, 2001).

Każdy rybosom składa się z dwóch podjednostek określanych jako mniejsza i większa, różniących się ilością i rodzajem zawartych w nich białek oraz kwasów rybonukleinowych (rRNA). Białka rybosomalne umiejscowione są wokół rRNA i stabilizurą strukturę rybosomu. Natomiast rRNA stanowi jego szkielet i posiada bardzo rozwiniętą strukturę przestrzenną. Jest on zasadniczą częścią katalityczną rybosomu niezbędną w procesie biosyntezy białek (BERG i współaut., 2007).

Wykorzystanie techniki ultrawirowania przez Svedberga spowodowało, że wielkość rybosomów wyraża się poprzez stałą sedymentacji (S) (BROWN, 2001). Rybosomy prokariotyczne są mniejsze niż eukariotyczne. Ich masa wynosi 2,7 MDa, a stała sedymentacji – 70S (BERG i współaut. 2007).

Topologie rybosomu prokariotycznego i eukariotycznego są do siebie zbliżone, zwłaszcza w budowie podjednostek dużych. Zarówno podjednostka 50S *E. coli*, jak i 60S *S. cerevisiae* posiadają takie same wyniosłości, tj. wypukłość centralną (ang. *central protuberance*), kciuk rybosomalny (ang. *stalk*) oraz wyniosłość L1. Powierzchnia kontaktu z małą podjednostką w przypadku podjednostki 50S i 60S jest również bardzo zbliżona. Istotną różnicą wydaje się fakt, że struktura dużej podjednostki eukariotycznej jest rozciągnięta wzdłuż osi poprzecznej, co przyczynia się do jej elipsoidalnego kształtu, podczas gdy duża podjednostka prokariotyczna jest półkolista (GABASHVILI i współaut. 2000, GAO i współaut. 2003, FRANK 2000, VERSCHOOR i współaut. 1998).

W przypadku struktur małych podjednostek rybosomu *Procaryota* i *Eucaryota* różnice są bardziej widoczne. Podjednostka 30S ma kształt trapezoidalny, a w jej strukturze zaznaczają się charakterystyczne elementy: głowa (ang. *head*), korpus (ang. *body*), ramię (ang. *shoulder*), platforma (ang. *platform*), dziób (ang. *beak*) oraz ostroga (ang. *spur*). Pomiędzy głową i platformą znajduje się szczelina (ang. *cleft*) stanowiąca zasadniczą część katalityczną – tzw. centrum dekodujące rybosomu (GABASHVILI i współaut. 2000; BĄKOWSKA, 2005). W małej podjednostce eukariotycznej są obecne dodatkowe struktury. Są to tzw. stopy (ang. *foot*): prawa i lewa, znajdujące się w dolnej części korpusu (SPAHN i współaut. 2001). Warto również zauważyć, że widoczne jest znaczne powiększenie rozmiarów małej podjednostki *Eucaryota* w porównaniu z małą podjednostką *Procaryota* (VERSCHOOR i współaut. 1998). Topologię dwóch podjednostek rybosomu prokariotycznego przedstawiono schematycznie na rysunku 3.



Rys. 3. Budowa rybosomu prokariotycznego: a) dużej podjednostki, b) małej podjednostki (na podstawie: TURNER i współaut. 2007).

PROCEDURA BIOSYNTEZY BIAŁEK

Główne etapy procesu biosyntezy białek – translacji, są uniwersalne i nie obserwuje się znacznych różnic w ich przebiegu w komórkach prokariotycznych i eukariotycznych. Proces ten jest tak fundamentalnym wydarzeniem w każdej żywej komórce, że niemożliwa jest wyraźna zmiana jego mechanizmu w toku ewolucji (KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ, 2002).

Biosynteza białka zachodzi w dwóch podstawowych etapach. Pierwszy z nich to aktywacja aminokwasu, drugi – synteza łańcucha polipeptydowego z udziałem m.in. rybosomów. Proces aktywacji aminokwasów został opisany już w latach pięćdziesiątych (HOAGLAND i współaut. 1956), natomiast biosynteza białka do dziś nie została w pełni rozszyfrowana (KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ, 2002). Aktywacja aminokwasu obejmuje dwa stadia, tj. (1) utworzenie aminoacyloadenylanu oraz (2) utworzenie aminoacylo-tRNA. Jest ona katalizowana przez specyficzną dla danego aminokwasu aminoacylo-tRNA syntetazę, określaną również jako ligaza. Końcowym rezultatem pierwszego etapu translacji jest wytworzenie cząsteczki tRNA związanej z resztą aminokwasową. Wiązanie pomiędzy grupą karboksylową tego aminokwasu i grupą hydroksylową rybozy tRNA ma charakter wiązania wysokoenergetycznego. W dalszych etapach translacji energia tego wiązania jest wykorzystywana podczas tworzenia wiązań peptydowych.

Synteza łańcucha białkowego jest wysoce skomplikowanym procesem angażującym szereg czynników translacyjnych. Obejmuje on trzy stadia, tj. (1) inicjację, (2) elongację i (3) terminację, które zachodzą cyklicznie. Początkowo następuje związanie mRNA z mniejszą podjednostką rybosomu, a następnie asocjacja obu podjednostek rybosomalnych. Każdy rybosom posiada trzy miejsca aktywne w swojej strukturze: miejsce P (dla peptydylo-tRNA), miejsce A (dla aminoacylo-tRNA) oraz miejsce E (dla tRNA pozbawionego reszty aminokwasowej). W czasie inicjacji do miejsca P przyłącza się tzw. inicjator, czyli cząsteczka tRNA połączona z metioniną. Natomiast podczas elongacji do miejsca A przyłącza się kolejne tRNA związane z odpowiednią resztą aminokwasową. Rodzaj aminoacylo-tRNA jest podyktowany kodonem mRNA, tj. specyficzną trójką nukleotydów. Wydłużanie łańcucha polipeptydowego odbywa się „o jeden aminokwas" zarówno u organizmów prokariotycznych, jak i eukariotycznych. A zatem, po utworzeniu wiązania peptydo-

wego pomiędzy metioniną i aminokwasem dostarczonym przez tRNA do miejsca A, następuje przesunięcie ramki odczytu o jeden kodon mRNA (translokacja), wskutek czego tRNA pozbawione reszty aminokwasowej zostaje przesunięte w miejsce E i uwolnione, natomiast tRNA związane z dipeptydem zajmuje obecnie miejsce P. Miejsce A pozostaje wolne dla kolejnej cząsteczki tRNA niosącej wybraną resztę aminokwasową. Tworzenie wiązania peptydowego jest katalizowane przez peptydylotransferazę, która jest obecna w większej podjednostce rybosomu. Elongacja łańcucha polipeptydowego trwa do momentu osiągnięcia przez ramkę odczytu kodonu STOP. Wówczas następuje oddysocjowanie podjednostek rybosomalnych oraz uwolnienie nowosyntetyzowanego białka (KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ, 2002; TURNER i współaut. 2007; BERG i współaut. 2007; BROWN, 2001).

ANTYBIOTYKI WPŁYWAJĄCE NA AKTYWNOŚĆ RYBOSOMU

Antybiotyki to substancje wykazujące działanie bakteriobójcze lub bakteriostatyczne nawet w bardzo niskich stężeniach. Pierwotnie określenia tego używano wyłącznie w odniesieniu do wtórnych metabolitów mikroorganizmów. Obecnie termin ten obejmuje również wszelkie półsyntetyczne i syntetyczne substancje posiadające takie same właściwości. Antybiotyki działają na ściśle określony element komórki bakteryjnej, np. ścianę komórkową, błonę cytoplazmatyczną, rybosomy lub szlaki metaboliczne. Ze względu na wiele różnic między komórką prokariotyczną i eukariotyczną istnieje małe prawdopodobieństwo toksycznego wpływu antybiotyku na organizm ludzki lub zwierzęcy. Ponadto, niektóre antybiotyki wykazują toksyczność selektywną, która pozwala na skuteczną eliminację patogenu bez szkody dla gospodarza (SINGLETON, 2000). Pod względem chemicznym antybiotyki są mocno zróżnicowaną grupą, co stanowi problem podczas ich klasyfikacji (MARKIEWICZ i KWIATKOWSKI, 2008).

Hamowanie biosyntezy białek, jako procesu niezbędnego do życia komórki, to jeden z mechanizmów działania antybiotyków. Poszczególne substancje mogą wpływać hamująco na wszystkie etapy translacji, oddziałując na rybosomy lub czynniki translacyjne (HARMS i współaut. 2003). Ze względu na wysoką skuteczność antybiotyki obniżające aktywność rybosomów są obiektem wielu badań biochemicznych, co skutkuje pojawieniem się licznych nowych generacji antybiotyków działających wydajniej i mniej toksycznie na organizm gospodarza (YONATH, 2005).

ANTYBIOTYKI DZIAŁAJĄCE NA CENTRUM DEKODUJĄCE RYBOSOMU

Centrum dekodujące to miejsce oddziaływania kodonu mRNA z komplementarnym anty-kodonem tRNA oraz tłumaczenia informacji genetycznej na język aminokwasów. Jest ono zlokalizowane w obrębie małej podjednostki rybosomu w pobliżu 3' końca 16S rRNA (LYNCH i PUGLISI, 2001).

Antybiotyki aminoglikozydowe, do których zalicza się m.in. streptomycynę, higromycynę B, paromomycynę i neomycynę, oddziałują na małą podjednostkę, a ich miejscem docelowym jest właśnie centrum dekodujące lub rejony rRNA bezpośrednio z nim sąsiadujące. Związanie aminoglikozydów z centrum

dekodującym powoduje zwykle zmianę konformacji rRNA prowadzącą do zakłóceń przepisywania informacji genetycznej, głównie do obniżenia wierności dekodowania (MEHTA i CHAMPNEY, 2002). Wszystkie antybiotyki z tej grupy wykazują powinowactwo wyłącznie do komórek bakteryjnych (MCCOY i współaut. 2010), zwłaszcza tlenowych pałeczek gramujemnych. Aminoglikozydy mają zdolność do swobodnej dyfuzji przez kanały w zewnętrznej błonie bakterii, jednakże do przekroczenia błony cytoplazmatycznej wymagają systemu transportu czynnego (MARKIEWICZ i KWIATKOWSKI, 2008). Istnieje możliwość uodpornienia się mikroorganizmów na antybiotyki aminoglikozydowe. Jest to następstwo enzymatycznych modyfikacji antybiotyku, tj. O-adenylacji, O-fosforylacji lub N-acetylacji, które zmniejszają powinowactwo antybiotyku do rRNA. Innymi sposobami nabywania odporności bakterii jest modyfikacja własnego rRNA, mutacja białek rybosomalnych, a także wykształcenie mechanizmu czynnie usuwającego cząsteczki antybiotyku z komórki (MCCOY i współaut. 2010).

Higromycyna B ogranicza ruchliwość helisy 44 biorącej udział w translokacji, co prowadzi do zatrzymania aminoacylo-tRNA w miejscu A (YONATH, 2005). Z kolei, streptomycyna zmienia konformację podjednostki 30S na taką, która wykazuje większe powinowactwo do niekomplementarnego tRNA, co prowadzi do syntezy białek o zmienionych właściwościach (HARMS i współaut. 2003). Paromomycyna i neomycyna oddziałują z wewnętrzną pętlą 16S rRNA, obecną wewnątrz centrum dekodującego. Ich związanie w ww. regionie powoduje zmiany konformacyjne pętli w miejscu A, które zwiększają jej powinowactwo do I i II pierścienia aminoglikozydów (MEHTA i CHAMPNEY, 2002).

Tetracyklina to antybiotyk będący wtórnym metabolitem niektórych organizmów, którego działanie opiera się na wiązaniu z podjednostką 30S i ograniczeniu ruchu aminoacylo-tRNA. W rezultacie cząsteczka ta nie może jednocześnie oddziaływać z miejscem dekodującym oraz centrum peptydylotrasferazy zlokalizowanym na dużej podjednostce 50S (MARKIEWICZ i KWIATKOWSKI, 2008). Tetracyklina wiąże się najczęściej pomiędzy głową i korpusem małej podjednostki, czyli w miejscu A.

Oprócz aminoglikozydów czy tetracykliny antybiotykami hamującymi biosyntezę białek poprzez oddziaływanie na centrum dekodujące są również spektynomycyna, paktamycyna oraz edeina. Pierwsza z nich należy do grupy aminocytoli i oddziałuje z głową małej podjednostki, hamując translokację peptydylo-tRNA z miejsca A do miejsca P (HARMS i współaut. 2003). Paktamycyna wiążąc się do małej podjednostki powyżej platformy blokuje ruch mRNA względem podjednostki 30S (BRODERSEN i współaut. 2000). Podobny mechanizm działania wykazuje edeina (YONATH, 2005).

ANTYBIOTYKI DZIAŁAJĄCE NA CENTRUM PEPTYDYLOTRANSFERAZY

Centrum peptydylotransferazy (PTC) stanowi region dużej podjednostk, który kontaktuje się z trzema funkcjonalnymi miejscami rybosomu: aminoacylowym (miejsce A), peptydylowym (miejsce P) oraz usuwającym deacylowane tRNA (miejsce E) (BASHAN i współaut. 2003). PTC uczestniczy w tworzeniu wiązania peptydowego między grupami aminowymi i karboksylowymi aminokwasów poprzez odpowiednie w czasie i przestrzeni rozmieszczenie aminoacylo-tRNA i peptydylo-tRNA (BROWN, 2001).

Wiele mikroorganizmów produkuje substancje o charakterze antybiotyków, które zakłócają funkcjonowanie PTC. Mechanizm działania tych antybiotyków to zapobieganie tworzeniu wiązania peptydowego poprzez upodabnianie się do substratu, a także blokowanie tunelu dla syntetyzowanego łańcucha polipeptydowego (HARMS i współaut.

2003). Uniemożliwienie związania substratu do PTC jest najprostszym mechanizmem działania antybiotyków (YONATH, 2005). Do ww. grupy antybiotyków zalicza się m.in. chloramfenikol, linkozamidy, pleuromulityny, streptograminy, oksazolidinony oraz sparsomycynę (MCCOY i współaut. 2010).

Chloramfenikol, pierwszy naturalny antybiotyk wyprodukowany syntetycznie, wiążę się do podjednostki 50S w pobliżu centrum peptydylotransferazy, blokując przyłączanie aminoacylo-tRNA do miejsca A, co uniemożliwia tworzenie wiązania peptydowego. Aktywność chloramfenikolu jest optymalna po wysyceniu rybosomów antybiotykiem w stosunku 1:1. Dzięki prostej budowie jego cząsteczki łatwo pokonuje barierę osłon komórkowych (MARKIEWICZ i KWIATKOWSKI, 2008).

Klindamycyna, jako główny przedstawiciel linkozamidów, wiąże się do dużej podjednostki pomiędzy PTC a rybosomalnym tunelem wyjścia nowosyntetyzowanego polipeptydu, redukując elastyczność rybosomu w tym regionie. Ten unikalny sposób wiązania nadaje klindamycynie szczególną efektywność w zwalczaniu infekcji spowodowanych przez beztlenowe bakterie i *Toxoplasma gonidii*, a także w leczeniu pneumocystozowego zapalenia płuc wywołanego przez *Pneumocystis carinii* u osób cierpiących na AIDS (MEHTA i CHAMPNEY, 2002). Oprócz hamowania reakcji katalizowanej przez peptydylotransferazę, klindamycyna może również powodować oddysocjowanie peptydylo-tRNA od rybosomu (MCCOY i współaut. 2010).

Tiamulina z grupy antybiotyków pleuromulitynowych, wiąże się ściśle do dużej podjednostki w miejscu aminoacylowym, obejmując częściowo również miejsce peptydylowe. W ten sposób blokuje dwa ww. miejsca jednocześnie (MCCOY i współaut. 2010).

Streptograminy zostały podzielone na dwie grupy różniące się budową i mechanizmem działania. Streptograminy A to makrolaktony inaktywujące miejsce donorowe i akceptorowe peptydylotransferazy, a tym samym hamujące elongację. Streptograminy B to cykliczne heksapeptydy zaburzające właściwe ustawienie peptydylo-tRNA w miejscu P, co hamuje tworzenie wiązań peptydowych. W ten sposób streptograminy zakłócają zarówno wczesne, jak i późne etapy biosyntezy białka (MARKIEWICZ i KWIATKOWSKI, 2008; MCCOY i współaut. 2010). Działanie synergistyczne obu grup polega na tym, że streptograminy A powodują zmiany konformacji centrum peptydylotransferazy, co prowadzi do zwiększenia powinowactwa rybosomu do streptogramin B (HARMS i współaut. 2003).

Oksazolidinony to nowa klasa antybiotyków aktywna wobec bakterii gram dodatnich i prątków, do której zalicza się linezolid i eperezolid (HARMS i współaut. 2003). Ww. substancje konkurują z substratem o miejsce akceptorowe podjednostki 50S. Dodatkowo, linezolid zwiększa częstotliwość zmiany ramki odczytu oraz nonsensownej supresji translacji (LYNCH i PUGLISI, 2001). Oporność bakterii na linezolid pojawia się niezwykle rzadko (BASHAN i współaut. 2003).

Sparsomycyna oddziałuje zarówno na rybosomy prokariotyczne, jak i eukariotyczne. Do jej związania niezbędne jest tRNA obecne w miejscu peptydylowym dużej podjednostki (HANSEN i współaut. 2003). Przyłączenie sparsomycyny powoduje zmiany konformacyjne, które wpływają na umiejscowienie cząsteczek tRNA w obrębie rybosomu, a także stymuluje układ do spontanicznej translokacji prowadzącej do upośledzenia funkcjonowania rybosomu (MCCOY i współaut. 2010).

ANTYBIOTYKI DZIAŁAJĄCE NA KANAŁ WYJŚCIA

Nowosyntetyzowany łańcuch polipeptydowy przemieszcza się przez tzw. tunel wyjścia położony poniżej centrum peptydylotransferazy. Antybiotyki wiążące się do tego regionu, do których zalicza się m.in. makrolidy, utrudniają przemieszczanie się polipeptydu przez tunel (MCCOY i współaut. 2010).

Makrolidy to rodzina makrocyklicznych laktonów zawierających zazwyczaj jeden lub więcej deoksymonosacharydów. Jednym z najbardziej znanych przedstawicieli makrolidów jest erytromycyna. Antybiotyki te wiążą się do węzła regionu wyjścia blokując przesuwanie łańcucha polipeptydowego. W rezultacie następuje zatrzymanie elongacji oraz odłączenie krótkich peptydylotRNA od rybosomu. Makrolidy oddziałują wyłącznie na rybosomy prokariotyczne. Czynnikiem odpowiedzialnym za ich selektywność jest guanina w pozycji 2058 rRNA u *Eucaryota*, zastąpiona u *Procaryota* przez adeninę. Częstym mechanizmem nabywania oporności na makrolidy i ketolidy jest upodabnianie się bakterii do organizmów eukariotycznych wskutek modyfikacji miejsca 2058 (MCCOY i współaut. 2010). Metylacja tej pozycji wywołuje oporność wyłącznie na makrolidy. Natomiast dimetylacja ww. miejsca chroni bakterie przed działaniem zarówno makrolidów, jak i ketolidów (LIU i DOUTHWAITE, 2002).

PODSUMOWANIE

Dogmat biologii molekularnej opisuje kierunek przepływu informacji genetycznej od DNA do białka. Transkrypcja to proces przepisywania sekwencji nukleotydowej DNA na sekwencję nukleotydową mRNA. Z kolei, translacja jest syntezą łańcucha polipeptydowego na podstawie informacji zawartych w mRNA. W procesie biosyntezy białek zaangażowane są m.in. rybosomy – kompleksy białek i kwasów rybonukleinowych. Ich miejsca funkcyjne, pełniące kluczowe role podczas tworzenia polipeptydów, są częstym celem antybiotyków. Duża ilość dostępnych substancji bakteriobójczych i bakteriostatycznych, których mechanizm działania opiera się na zakłócaniu procesu biosyntezy białek, pozwala na skuteczną eliminację wybranych patogenów.

LITERATURA

BARTENSCHLAGER R., LOHMANN V., 2000. *Replication of hepatits C virus.* J. Gen. Virol. 81, 1631-1648.

BASHAN A., AGMON I., ZARIVACH R., SCHULEZEN F., HARMS J., BERISIO R., BARTELS H., FRANCESCHI F., AUERBACH T., HANSEN H. A. S., KOSSOY E., KESSLER M., YONATH A., 2003. *Structural basis of the ribosomal machinery for peptide bond formation, translocation and nascent chain progression.* Molecular Cell 11, 91-102.

BĄKOWSKA K., 2005. *Funkcja wybranych fragmentów 16S rRNA małej podjednostki rybosomalnej w procesie biosyntezy białka.* Biotechnologia 2, 206-214.

BERG J. M., STRYER L., TYMOCZKO J. L., 2007. *Biochemia, wydanie III.* PWN, Warszawa.

BRODERSEN D. E., CLEMONS W. M., CARTER A. P., MORGAN-WARREN R. J., WIMBERLY B. T., RAMAKRISHNAN V., 2000. *The scructural basis for the action of the antibiotics tetracycyline, pactamycin and hygromycin B on the*

30S ribosomal subunit. Cell 103, 1143-1154.

BROWN T. A., 2001. *Genomy.* PWN, Warszawa.

GABASHVILI I. S., AGARWAL R. K., SPAHN C. M. T., GRASSUCCI R. A., SVERGUN D. I., FRANK J., PENCZEK P., 2000. *Solution structure of the E. coli 70S ribosome at 11.5 Å resolution.* Cell 100, 537-549.

GAO H., SENGUPTA J., VELLE M., KOROSTELEV A., ESWAR N., STAGG S. M., VAN ROEY P., AGARWAL R. K., HARVEY S. C., SALI A., CHAPMAN M. S., FRANK J., 2003. *Study of the structural dynamics of the E. coli 70S ribosome using real-space refinement.* Cell 113, 789-801.

HAMES B. D., HOOPER N. M., 2006. *Biochemia – krótkie wykłady. Wydanie drugie.* PWN, Warszawa.

HANSEN J. L., MOORE P. B., STEITZ T. A., 2003. *Structures of five antibiotics bound at the peptidyl transferase center of the large ribosomal subunit.* J. Mol. Biol. 333, 1061-1075.

HARMS J. M., BARTELS H., SCHLUZEN F., YONATH A., 2003. *Antibiotics acting on the translational machinery.* J. Cell Sci. 116, 1391-1393.

HOAGLAND M. B., KELLER E. B., ZAMECNIK P. C., 1956. *Enzymatic carboxyl activation of amino acids.* J. Biol. Chem. 218, 345-358.

KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ L., 2002. *Cytobiochemia. Biochemia niektórych struktur komórkowych.* PWN, Warszawa.

LIU M., DOUTHWAITE S., 2002. *Activity of ketolide telithromycin is refractory to erm monomethylation of bacterial rRNA.* Antimicrobial Agents and Chemiotherapy, 1629-1633.

LYNCH S. R., PUGLISI J. D., 2001. *Structure of a eucaryotic decoding region A-site RNA.* J. Mol. Biol. 306, 1023-1035.

MARKIEWICZ Z., KWIATKOWSKI Z. A., 2008. *Bakterie, antybiotyki, lekooporność.* PWN, Warszawa.

MCCOY L. S., XIE Y., TOR Y., 2011. *Antibiotics that target protein synthesis.* Villey Interdiscip. Rev. RNA 2, 209-232.

MEHTA R., CHAMPNEY W. S., 2002. *30S ribosomal subunit assembly is a target for inhibition by aminoglicosides in Escherichia coli.* Antimicrobial Agents and Chemiotherapy, 1546-1549.

SINGLETON P., 2000. *Bakterie w biologii, biotechnologii i medycynie.* PWN, Warszawa.

SPAHN C. M. T., BECKMANN R., ESWAR N., PENCZEK P. A., SALI A., BLOBEL G., FRANK J., 2001. *Structure of the 80S ribosome from Saccharomyces cerevisiae – tRNA-ribosome and subunit-subunit interactions.* Cell 107, 373-386.

TURNER P. C., MCLENNAN A. G., BATES A. D., WHITE M. R. H., 2007. *Biologia molekularna – krótkie wykłady. Wydanie drugie.* PWN, Warszawa.

VERSCHOOR A., WERNER J. R., SRIVASTAVA S., ROBERT A., GRASSUCCI R. A., FRANK J., 1998. *Three-dimensional structure of the yeast ribosome.* Nucleic Acid Research 26, 655-661.

YONATH A., 2005. *Antibiotics targeting ribosomes: resistance, selectivity, synergism and cellular regulation.* Annu. Rev. Biochem. 74, 649-679.

ZHENG Y. H., LOVSIN N., PETERLIN B. M., 2005. *Nowly identified host factors modulate HIV replication.* Immunol. Lett. 97, 225-234.

NaukiPrzyrodnicze

Numer 1 (1) 2013
Strony 22-25

EWELINA KORZENIOWSKA

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Chemii
Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin
E-mail: ewelina_korzeniowska@wp.pl

BIOLOGICZNA AKTYWNOŚĆ SURFAKTANTÓW KATIONOWYCH I SURFAKTANTÓW GEMINI

STRESZCZENIE

Klasyczne surfaktanty to związki amfifilowe składające się z części hydrofilowej i hydrofobowej. Surfaktanty gemini złożone są z dwóch cząsteczek klasycznego surfaktanta połączonych łącznikiem. Surfaktanty kationowe oraz czwartorzędowe sole amoniowe należące do związków typu gemini wykazują aktywność biologiczną przeciwko drobnoustrojom. Działanie związków zależy w dużej mierze od natury drobnoustroju i budowy surfaktanta.

Słowa kluczowe: surfaktanty kationowe, surfaktanty gemini, czwartorzędowe sole amoniowe, aktywność biologiczna.

THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF CATIONIC SURFACTANTS AND GEMINI SURFACTANTS

SUMMARY

Classic surfactants are amphiphilic compounds consisting of hydrophilic and hydrophobic parts. Gemini surfactants are composed of two classical surfactant molecules joined by a linker. Cationic surfactants and quaternary ammonium salts of gemini type exhibit biological activity against microorganisms. Activity of these compounds depend largely on the nature of the microorganism and the construction of the surfactant.

Keywords: cationic surfactants, gemini surfactants, quaternary ammonium salts, biological activity.

BUDOWA

Surfaktanty (związki powierzchniowo czynne) zbudowane są z dwóch części o skrajnych właściwościach. Wyróżniamy część hydrofilową zwaną głową oraz część hydrofobową – tzw. ogon. Część hydrofilową najczęściej stanowi reszta kwasowa lub zasadowa, a jej obecność umożliwia cząsteczce klasycznego surfaktanta rozpuszczanie się w wodzie i roztworach polarnych. Część lipofilowa to długi alifatyczny łańcuch węglowodorowy, który wykazuje powinowactwo do cieczy niepolarnych.

Surfaktanty gemini zbudowane są z dwóch grup hydrofilowych oraz dwóch łańcuchów alifatycznych połączonych łącznikiem. Grupa łącząca może występować pomiędzy głowami surfaktanta lub pomiędzy ogonami. Łącznikiem najczęściej jest mostek disiarczkowy lub amid. Grupa hydrofilowa może mieć charakter jonowy – kationowy, anionowy lub obojętny (cukry, polietery), natomiast część hydrofobową stanowi kwas tłuszczowy.

AKTYWNOŚĆ POWIERZCHNIOWA

Konsekwencją asymetrycznej budowy zarówno klasycznych surfaktantów jak i surfaktantów gemini jest fakt, iż wykazują one w roztworach wodnych wiele właściwości określanych mianem aktywności powierzchniowej. Pod pojęciem aktywności powierzchniowej rozumiemy zdolność do obniżania napięcia powierzchniowego i międzyfazowego w roztworach wodnych. Wiele badań wskazuje na to, że surfaktanty gemini są w stanie obniżyć napięcie powierzchniowe o około 1000 razy bardziej niż monomeryczne związki powierzchniowo czynne.

SURFAKTANTY KATIONOWE

W cząsteczce klasycznego surfaktanta kationowego część hydrofilową zawiera trzecio- albo czwartorzędowy atom azotu, częścią hydrofobową jest najczęściej łańcuch węglowodorowy bezpośrednio lub pośrednio (przez grupę estrową, eterową lub amidową) związany z atomem azotu. Surfaktanty kationowe spośród licznych grup związków powierzchniowo czynnych wyróżniają się dużą aktywnością biologiczną. Surfaktanty kationowe oraz preparaty zawierające jako główne składniki surfaktanty kationowe wykazują dużą aktywność bakterio- i grzybostatyczną oraz bakterio- i grzybobójczą. Aktywność biobójcza omawianych związków zależy między innymi od budowy i stężenia surfaktanta. Najbardziej skuteczne są te związki, które zawierają wbudowany długi łańcuch alkilowy lub dwa łańcuchy alkilowe bądź grupę benzylową. Dla przykładu - największą skuteczność bakteriobójczą w stosunku do *Pseudomonas aeroginosa* wykazuje chlorek trialkilobenzyloamoniowy, którego łańcuch alkilowy składa się z 14 atomów węgla. Warto też zwrócić uwagę na fakt, iż surfaktanty kationowe są mniej skuteczne w stosunku do bakterii gram-ujemnych niż gram-dodatnich. Interesującym związkiem jest sacharynian benzalkoniowy stosowany jako substancja konserwująca w środkach do higieny jamy ustnej. Substancja ta wykazuje właściwości antybakteryjne - a dodatkowo ma właściwości słodzące ze względu na obecność sacharyny. Chlorek kokobenzylodimetyloamoniowy oraz

chlorek didodecylodimetyloamoniowy wykazują aktywność grzybobójczą przeciwko *Candida albicans, Saccharomyces cerevisiae* oraz *Aspergillus niger*. Bromek dodecylotrifenylofosfoniowy znalazł zastosowanie w preparatach do pielęgnacji stóp z uwagi na swoje właściwości grzybobójcze.

CZWARTORZĘDOWE SOLE AMONIOWE (CSA)

Czwartorzędowe sole amoniowe są przedstawicielami surfaktantów gemini. Jak sama nazwa wskazuje związki te są pochodnymi jonu amoniowego. Związki typu gemini wykazują najsilniejsze działanie bakteriobójcze, mają szerszy i efektywniejszy zakres działania niż ich monomeryczne odpowiedniki. Liczne badania wskazują na to, iż aktywność czwartorzędowych soli amoniowych zależy od rozmiarów części hydrofilowej oraz od długości hydrofobowego łańcucha. Najbardziej aktywne są te związki, których ogon składa się z 10-12 atomów węgla. Aktywność CSA spada wraz ze wzrostem długości łańcucha alkilowego. Podobnie jak w przypadku klasycznych surfaktantów kationowych surfaktanty gemini wykazują większe działanie antybakteryjne przeciwko bakteriom gram-dodatnich niż gram-ujemnym. Powszechnie znanym i stosowanym środkiem przeciwdrobnoustrojowym jest chlorek benzalkoniowy. Substancja ta przyłącza się do lipidów błon komórkowych bakterii powodując powstanie nieprzepuszczalnej warstwy na powierzchni komórki. Drobnoustrój w takich warunkach ginie, ponieważ nie następuje wymiana metabolitów z otoczeniem. Pochodna atropiny – bromek ipratropium znalazł zastosowanie przy zakażeniach retrowirusem wywołującym infekcje górnych dróg oddechowych. Nadtlenek N,N-dimetylo-1-metylododecyloamoniowy hamuje wzrost drożdży, grzybów, bakterii, a w określonych stężeniach powoduje lizę protoplastów. Chlorek N-dodecyloksykarboksymetylo-N,N-trimetyloamoniowy w lekko kwaśnym środowisku jest inhibitorem komórek drożdży. Niektóre surfaktanty typu gemini są w stanie hamować mitozę komórek, np. bromogramina, inne natomiast pełnią funkcje antybiotyku – charamina.

MECHANIZM DZIAŁANIA SURFAKTANTA NA DROBNOUSTRÓJ

Mechanizm biobójczego działania zarówno klasycznych surfaktantów kationowych jak i związków typu gemini nie jest do końca poznany. Przypuszcza się, iż pomiędzy dodatnio naładowaną częścią surfaktanta a ujemnie naładowanym fragmentem komórki drobnoustroju występuje elektrostatyczne oddziaływanie. Odpowiednio duże stężenie związku powierzchniowo czynnego powoduje uszkodzenie błony komórkowej mikroorganizmu, co prowadzi do zahamowana procesów życiowych komórki.

PODSUMOWANIE

Klasyczne związki amfifilowe oraz surfaktanty gemini znajdują liczne zastosowanie jako środki konserwujące i dezynfekujące ze względu na swoją biologiczna aktywność przeciwko drobnoustrojom. Dokładne poznanie mechani-

zmów działania surfaktanów może przyczynić się do syntezy nowych związków tego typu z możliwością wykorzystania ich w medycynie, rolnictwie, leśnictwie i innych dziedzinach gospodarki. Warto zaznaczyć, że ogromną zaletą omawianych związków jest biodegradowalność oraz niska toksyczność dla człowieka.

.

LITERATURA

D. SHUKLA, V.K. TYAGI, *Journal of Oleo Science*, 2006, 385.

E. OBŁĄK, A. GAMAIN, *Postepy Hig Med Dosw,* 2010, 202-205.

R. ZIELIŃSKI, *Surfaktanty towaroznawcze i ekologiczne aspekty ich stosowania*, 2000, 9-12, 22-23, 183-194.

S. K. HAIT, S. P. MOULIK, *Current Science*, 2002, 1108.

T. PISKORSKA, E. OBŁĄK, *Postepy Hig Med Dosw,* 2010, 162-163.

NaukiPrzyrodnicze

Numer 1 (1) 2013
Strony 26-33

DIANA RYMUSZKA

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
Wydział Chemii
Katedra Chemii Fizycznej – Zakład Zjawisk Międzyfazowych
Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin
E-mail: d_rymuszka@vp.pl

WARSTEWKI FOSFOLIPIDOWE MODYFIKOWANE ENZYMAMI

STRESZCZENIE

Fosfolipidy stanowią podstawowy składnik błon biologicznych, a ich złożoność odgrywa znaczącą rolę w funkcjonowaniu naturalnych membran. Dlatego też utworzone z nich warstewki, w szczególności podwójne, są doskonałym modelem błon biologicznych umożliwiającym zbadanie zachodzących w jej obrębie procesów biochemicznych.

Celem niniejszej pracy była charakterystyka warstw lipidowych modyfikowanych enzymatycznie, którą przeprowadzono na podstawie analizy kątów zwilżania trzech różniących się polarnością cieczy testowych: wody, formamidu oraz dijodometanu zmierzonych dla mono- i biwarstw osadzonych na powierzchni miki. Warstewki te utworzono z następujących lipidów: 1,2-dipalmitoilo-sn-glicero-3-fosfocholiny (DPPC), 1,2-dioleilo-sn-glicero-3-fosfocholiny (DOPC) oraz cholesterolu (Chol).

Przeprowadzone badania umożliwiły uzyskanie szczegółowych informacji dotyczących procesu hydrolizy badanych fosfolipidów oraz związanych z nim zmian zwilżalności powierzchni ciała stałego pokrytego warstwą lipidową modyfikowaną enzymatycznie.

Słowa kluczowe: warstewki fosfolipidowe, fosfolipaza A_2, kąt zwilżania.

PHOSPHOLIPID LAYERS MODIFIED BY ENZYME

SUMMARY

Phospholipids are basic component of the biological membranes and they play a significant role in the functioning of natural membranes. Therefore, films formed from them, in particular bilayers, are an excellent model to study of occurring biochemical processes.

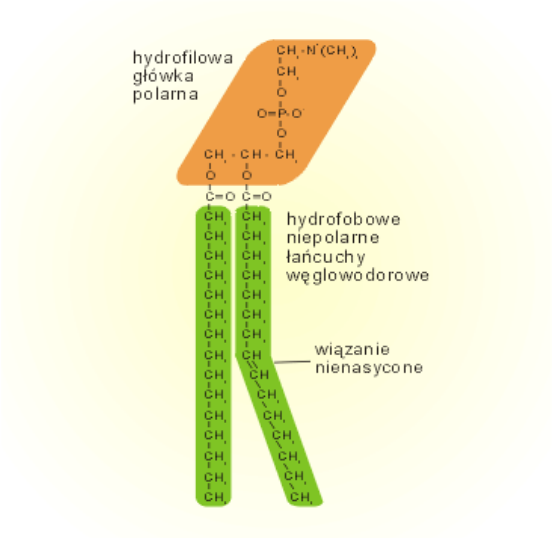
The aim of this study was to characterize the lipid layers modified by enzyme-phospholipase A_2, which was based on the analysis of contact angles of three liquids: water, formamide and diiodomethane measured for them monolayers and bilayers deposited on mica. These layers was formed from the following lipids: 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC), 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC) and cholesterol (Chol).

The study made it possible to obtain detailed information of the hydrolysis process examined phospholipids and the related changes in the wettability of solid surface deposited with a lipid layer modified by enzyme.

Keywords: phospholipid layers, phospholipase A_2, contact angle.

FOSFOLIPIDY

Fosfolipidy, nazywane również fosfoglicerydami, to lipidy stanowiące bardzo ważny składnik zarówno komórek roślinnych jak i zwierzęcych, w szczególności komórek nerwowych. W skład każdej cząsteczki fosfolipidu wchodzi glicerol lub sfingozyna (które stanowią tak zwany rdzeń), połączone wiązaniem estrowym z kwasem fosforowym i dwoma kwasami tłuszczowymi. Kwas fosforowy dodatkowo połączony jest za pomocą wiązania estrowego z innym alkoholem, którym może być: cholina, seryna, etanoloamina, inozytol lub glicerol. Fosfolipidy są strukturami amfipatycznymi (rysunek 1). Oznacza to, że posiadają zarówno część hydrofilową jak i hydrofobową, co prowadzi do odpowiedniego orientowania się ich cząsteczek w zależności od środowiska w jakim się znajdują. Część hydrofilową stanowi grupa fosforanowa połączona wiązaniem estrowym z jednym z wyżej wymienionych alkoholi i umożliwia kontakt ze środowiskiem wodnym. Z kolei charakter hydrofobowy cząsteczki fosfolipidu jest uwarunkowany obecnością kwasów tłuszczowych.



Rys. 1. Budowa fosfolipidu (Katedra i Zakład Biofizyki, 1998).

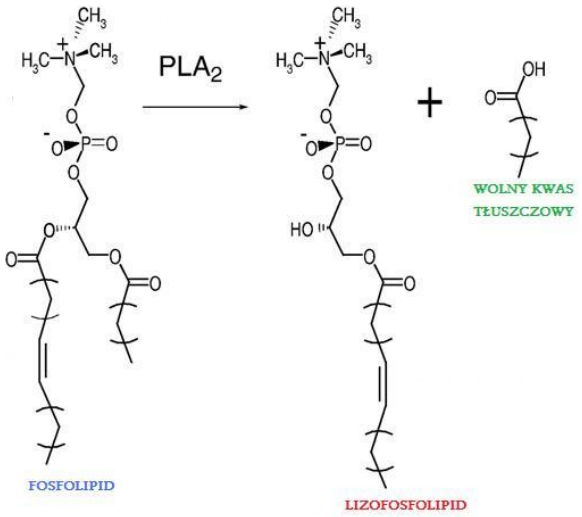
Ze względu na swoje cenne właściwości, fosfolipidy znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym i chemicznym. W środowisku wodnym tworzą jedno- lub wielowarstwowe pęcherzyki zwane liposomami, które wykazują zdolność migracji w głąb naskórka. Zamykanie w lipo-

somach wielu składników odżywczych i substancji leczniczych umożliwia ich efektywne dostarczanie do odpowiednich warstw naskórka. Liposomy wytwarza się z odpowiednio dobranych fosfolipidów bądź też ich mieszanin o określonym stosunku molowym. Fosfolipidy posiadają również zdolność wbudowywania się w błony komórek naskórka, co skutkuje zwiększeniem elastyczności skóry (T. MROZOWSKI). Natomiast na powierzchni skóry mogą tworzyć swoistego rodzaju film ochronny zabezpieczający skórę przed nadmierną utratą wody, a także przed szkodliwymi czynnikami zewnętrznymi. Oprócz tego większość fosfolipidów stanowi przykład dobrych i niedrogich emulgatorów, które obniżając napięcie powierzchniowe na granicy faz, ułatwiają tym samym tworzenie emulsji.

Przykładem naturalnie występujących fosfolipidów jest między innymi należąca do grupy lecytyn 1,2-dipalmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina (DPPC) oraz 1,2-dioleilo-sn-glicero-3-fosfocholina (DOPC), która w przeciwieństwie do DPPC posiada dwa wiązania podwójne. Ponadto w skład błon biologicznych wchodzi również cholesterol, przedstawiciel grupy steroidów, będący prekursorem wielu substancji biologicznie czynnych.

HYDROLIZA FOSFOLIPIDÓW KATALIZOWANA ENZYMAMI

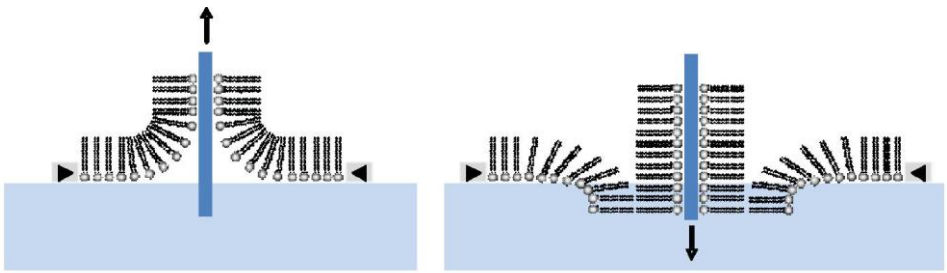
Reakcje hydrolizy fosfolipidów katalizują enzymy trawienne zwane fosfolipazami. W zależności od hydrolizowanego miejsca wyróżnia się fosfolipazę: A_1, A_2, C oraz D. Fosfolipazy stanowią idealny próbnik pozwalający na opis struktury modelowych membran, dlatego też są one z dużym powodzeniem wykorzystywane do charakterystyki błon biologicznych. Warto wspomnieć tu o fosfolipazie A_2 (PLA_2) odpowiedzialnej za rozkład wiązania estrowego *sn-2* fosfolipidu, który prowadzi do powstawania odpowiedniego kwasu tłuszczowego oraz lizofosfolipidu (rysunek 2). Fosfolipaza A_2, oznaczana również symbolem PLA_2, jest zależnym od stężenia jonów wapnia enzymem występującym dość powszechnie w organizmach żywych takich jak bakterie, węże, ssaki. Poznanie i zrozumienie zjawiska hydrolizy fosfolipidów jest bardzo ważne z punktu widzenia procesów fizjologicznych zachodzących w organizmie, takich jak: metabolizm lipidów, odpowiedź immunologiczna czy też reakcje związane z trawieniem substancji lipidowych.



Rys. 2. Schemat reakcji hydrolizy fosfolipidów katalizowanej przez fosfolipazę A_2 (H. P. WACKLIN, F. TIBERG , G. FRAGNETO, R. K. THOMAS, 2007).

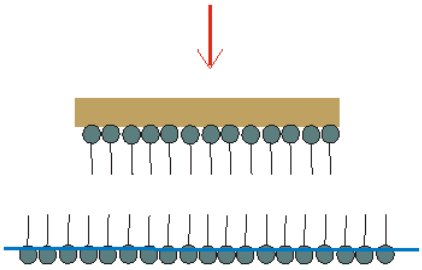
Warstwy fosfolipidowe osadzone na powierzchni ciała stałego umożliwiają śledzenie oddziaływań pomiędzy warstwą lipidową i enzymami, dostarczając tym samym cennych wskazówek dotyczących naturalnych procesów biochemicznych. Cieszą się one coraz większym zainteresowaniem ze względu na ich potencjał aplikacyjny w biotechnologii i medycynie.

Jedną z metod nanoszenia filmów lipidowych na podłoża stałe jest metoda Langmuira-Blodgett (LB) polegająca na kompresji monowarstw Langmuira rozpostartych na granicy faz powietrze/woda do określonej wartości ciśnienia powierzchniowego, a następnie na przeniesieniu warstewki na nośnik podczas jego wyciągania z subfazy wodnej. Biwarstwę LB można uzyskać z kolei podczas ponownego zanurzenia ciała stałego z osadzoną już monowarstwą.



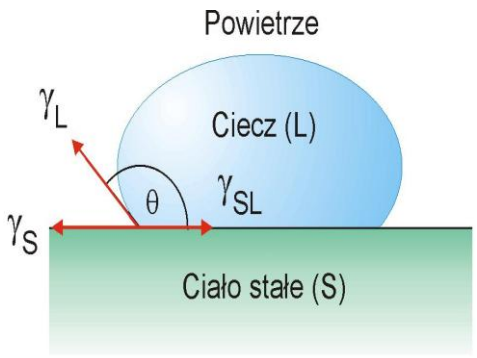
Rys. 3. Schemat przedstawiający przeniesienie monowarstwy Langmuira z subfazy wodnej na powierzchnię ciała stałego (M. EEMAN, M. DELEU, 2010).

Inną metodą prowadzącą do utworzenia biwarstwy jest technika Langmuira-Schaefera (LS). W metodzie tej drugą warstwę osadza się na ciele stałym z uprzednio naniesioną monowarstwą, przy czym jej przenoszenie następuje w pozycji horyzontalnej.



Rys. 4. Schemat metody depozycji biwarstwy metodą Langmuira-Schaefera (LS).

Badania filmów fosfolipidowych naniesionych na podłoża stałe można prowadzić stosując między innymi pomiary kątów zwilżania kropelek cieczy postawionych na takim filmie. Kąt zwilżania (θ) jest to kąt zawarty między płaszczyzną powierzchni ciała stałego i styczną do powierzchni kropli osadzonej na tym ciele stałym w punkcie trójfazowego kontaktu. Zazwyczaj mierzy się dwa kąty zwilżania, wstępujący (θ_A) i cofający (θ_R).



Rys. 5. Schematyczne przedstawienie kąta zwilżania (gdzie: γ_L- napięcie powierzchniowe cieczy, γ_S- swobodna energia powierzchniowa ciała stałego, γ_{SL}- swobodna energia międzyfazowa)(http://www.katedrachf.umcs.lublin.pl).

PRZEPROWADZONE BADANIA

W ramach badań dotyczących hydrolizy fosfolipidów katalizowanej przez fosfolipazę A_2 przeprowadzono pomiary wstępujących i cofających kątów zwilżania cieczy zróżnicowanych pod względem polarności: wody, formamidu i dijodometanu dla monowarstw i biwarstw DPPC/Chol (3:1) i DOPC/Chol (1:1). Wspomniane układy mieszane zostały wybrane do modyfikacji enzymatycznej ze względu na fakt, iż są one z termodynamicznego punktu widzenia najbardziej stabilne (A. SZCZEŚ, M. JURAK, E. CHIBOWSKI, 2012, E. PŁUDOWSKA, 2011).

Monowarstwy nanoszono na powierzchnię miki przy zastosowaniu metody Langmuira-Blodgett (LB), zaś biwarstwy otrzymywano techniką Langmuira- Schaefera (LS). Osadzone na nośniku warstwy poddawano hydrolizie stosując roztwór buforowy fosfolipazy A_2 (PLA_2) o pH równym 8,0 przez odpowiednio 5, 15, 30, 60 oraz 120 minut w temperaturze 20°C lub 37°C. Po wysuszeniu próbek zmierzono kąty zwilżania trzech różniących się polarnością cieczy testowych: wody, formamidu i dijodometanu.

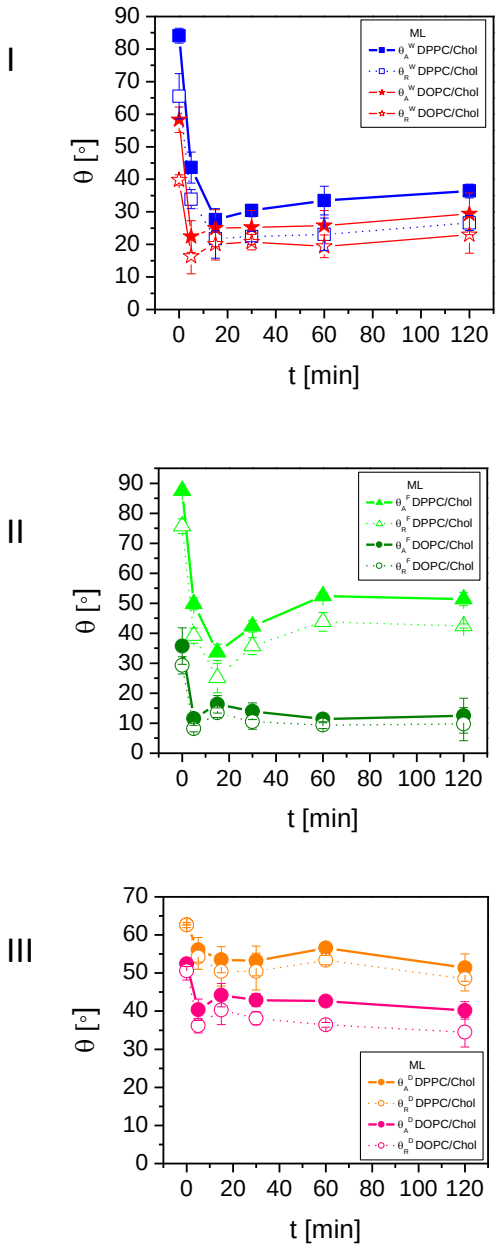
DYSKUSJA WYNIKÓW

PORÓWNANIE ZWILŻALNOŚCI MNONOWARSTW UKŁADÓW DPPC/CHOL I DOPC/CHOL

Różnice w zwilżalności wyjściowych monowarstw DPPC/Chol oraz DOPC/Chol wpływają na przebieg procesu hydrolizy i ostatecznie na zwilżalność warstewek modyfikowanych enzymatycznie. Z doniesień literaturowych wynika, że aktywność enzymów działających na granicy faz membrana - roztwór zależy od struktury membrany (U.B.JENSEN, A.C.SIMONSEN, 2005). Słabiej upakowana warstewka może ułatwiać cząsteczkom enzymu dostęp do wiązań estrowych fosfolipidu i przyspieszać proces hydrolizy i membrana powinna szybciej ulec degradacji.

Dokonując porównania wartości kątów zwilżania uzyskanych dla obu układów w funkcji czasu kontaktowania z roztworem enzymu, które zestawiono na rysunku 6, można zauważyć, że przebieg zmian zwilżalności monowarstw DPPC/Chol i DOPC/Chol modyfikowanych enzymatycznie jest analogiczny, ale wartości uzyskane dla bardziej skondensowanej monowarstwy DPPC/Chol są wyższe. Oznacza to, że warstewka jest słabiej zwilżalna zarówno przez ciecze polarne jak i polarny dijodometan. Zaskakujący jest także fakt, że po 2 h hydrolizy wartości kątów zwilżania nie są zbieżne w obu układach. Powyższe za-

leżności sugerują, że pomiędzy cholesterolem a nasyconymi produktami hydrolizy, tj. kwasem palmitynowym i 1-palmitoilo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholiną istnieją silniejsze oddziaływania, które mogą sprzyjać tworzeniu się kompleksów (A. SZCZEŚ, M. JURAK, E. CHIBOWSKI, 2012). Z drugiej strony, oddziaływania pomiędzy cholesterolem a nienasyconymi produktami hydrolizy DOPC, tj. kwasem oleinowym i 1-oleoilo-2-hydroksy-sn-glicero-3-fosfocholiną, są słabsze i dlatego produkty łatwiej rozpuszczają się w buforze opuszczając powierzchnię. Należy także uwzględnić większe nieuporządkowanie układu DOPC/Chol związane z obecnością nienasyconych wiązań, dzięki czemu ciecz może wnikać w głąb warstewki. Dlatego uzyskane kąty zwilżania są niższe, co oznacza, że powierzchnia jest bardziej zwilżalna.

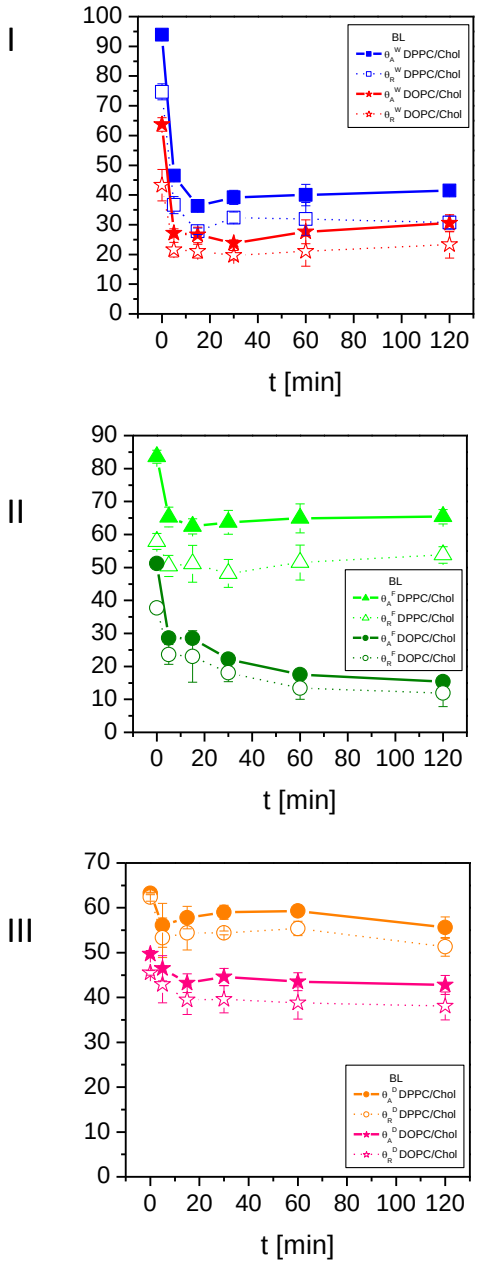


Rys. 6. Wartości wstępującego (θ_A) i cofającego (θ_R) kąta zwilżania (**I**) wody (W), (**II**) formamidu (F) oraz (**III**) dijodometanu (D) zmierzone na monowarstwach (ML) DPPC/Chol o ułamku molowym Chol x_{Chol}=0,25 oraz DOPC/Chol o ułamku molowym Chol x_{Chol}=0,5 w funkcji czasu kontaktu (t) z PLA_2 w temperaturze 20°C.

DYSKUSJA WYNIKÓW

PORÓWNANIE ZWILŻALNOŚCI MNONOWARSTW UKŁADÓW DPPC/CHOL I DOPC/CHOL

Bardzo podobne zależności w zmianach zwilżalności układów DPPC/Chol i DOPC/Chol modyfikowanych enzymatycznie obserwuje się dla biwarstw, dla których jednak wartości kątów zwilżania są nieco wyższe niż dla monowarstw (rysunek 7). Jak wspomniano wcześniej może być to związane z obecnością w strukturze warstewki produktów hydrolizy, które ze względu na hydrofobowy charakter powietrza prawdopodobnie orientują się węglowodorowymi łańcuchami w kierunku środowiska zewnętrznego.



Rys. 7. Wartości wstępującego (θ_A) i cofającego (θ_R) kąta zwilżania (I) wody (W), (II) formamidu (F) oraz (III) dijodometanu (D) zmierzone na biwarstwach (BL) DPPC/Chol o ułamku molowym Chol x_{Chol}=0,25 oraz DOPC/Chol o ułamku molowym Chol x_{Chol}=0,5 w funkcji czasu kontaktu (t) z PLA_2 w temperaturze 20°C.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

W ramach tej pracy badawczej przeprowadzono badania zmian zwilżalności monowarstw i biwarstw lipidowych osadzonych na mice, zbudowanych z DPPC, DOPC i cholesterolu, które poddano modyfikacji enzymem – fosfolipazą A_2.

Uzyskane w trakcie prowadzonych badań wyniki pozwoliły na wyprowadzenie pewnych wniosków. Czas kontaktu warstewek lipidowych z PLA_2 istotnie wpływa na postęp procesu hydrolizy i w miarę prowadzenia procesu hydrolizy enzymatycznej w pierwotnie hydrofobowej warstewce pojawiają się polarne produkty. Wartości kątów zwilżania wszystkich cieczy zmierzone dla biwarstw są większe od zmierzonych dla monowarstw. Ponadto w przypadku biwarstw DPPC/Chol i DOPC/Chol występują analogiczne zależności w zmianach zwilżalności układów modyfikowanych enzymatycznie. Największe zmiany w wartościach kątów zwilżania obserwuje się w początkowym czasie kontaktu z enzymem, wynoszącym od 5 do 15 minut. Z kolei najmniejsze zmiany kąta zwilżania zachodzące wskutek kontaktu warstewki z fosfolipazą A_2, stwierdzono dla dijodometanu, który oddziałuje z lipidem tylko siłami dyspersyjnymi.

LITERATURA

T. MROZOWSKI, *Lecytyna-cudowna cząsteczka,* Farmakoterapia.

Katedra i Zakład Biofizyki, *Struktura błon biologicznych*, 1998.

H. P. WACKLIN, F. TIBERG , G. FRAGNETO, R. K. THOMAS, 2007, *Distribution of reaction products in phospholipase A2 hydrolysis*, Biochimica et Biophysica Acta 1768 1036–1049.

M. EEMAN, M. DELEU, 2010, *From biological membranes to biomimetic model membranes*, Biotechnology, Agronomy, Society and Environment 14 719-736.

http://www.katedrachf.umcs.lublin.pl

A. SZCZEŚ, M. JURAK, E. CHIBOWSKI, 2012, *Stability of binary model membranes – Prediction of the liposome stability by the Langmuir monolayers study*, Journal of Colloid Interface Science 372 212-216.

E. PŁUDOWSKA, 2011, *Badanie właściwości dwuskładnikowych monowarstw Langmuira.*

U.B. JENSEN, A.C. SIMONSEN, 2005, *Shape relaxations in a fluid supported membrane during hydrolysis by phospholipase A_2*, Biochimica et Biophysica Acta 1715 1-5.

NaukiPrzyrodnicze

Numer 1 (1) 2013
Strony 34-40

MAGDALENA STRÓŻ

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu
Koło Naukowe Architektów Krajobrazu
Ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin
E-mail: magda062@wp.pl, tel. 798 255 091

STAN PRZEOBRAŻEŃ KRAJOBRAZU CMENTARZY POLSKICH NA PRZYKŁADZIE CMENTARZA PRZY UL. LIPOWEJ W LUBLINIE

STRESZCZENIE

Przeobrażenia krajobrazu cmentarzy polskich zmierzają w złym kierunku. Negatywne przekształcenia szczególnie uwidaczniają się w aspekcie krajobrazowym i kompozycyjnym. Powyższa praca wyszczególnia najważniejsze zagrożenia form krajobrazu cmentarzy w zakresie układu przestrzennego, architektury i formy nagrobków, oraz zieleni cmentarnej. Niepokojące zjawiska zostały opisane na przykładzie jednej z najstarszych i najpiękniejszych nekropolii w Polsce – cmentarza przy ul. Lipowej w Lublinie.

Słowa kluczowe: cmentarze, przeobrażenia i perspektywy ochrony krajobrazu.

TRANSFORMATIONS OF THE LANDSCAPE OF POLISH CEMETERIES ILLUSTRATED WITH AN EXAMPLE OF THE CEMETERY ON LIPOWA STREET IN LUBLIN

SUMMARY

The transformation of polish cemeteries landscape is headed in the wrong direction. Negative changes are most evident in terms of landscape and composition. This work points out the most vital threats to the forms of cemeteries landscape in the aspect of spatial arrangement, tombstone's forms and architecture as well as cemeteries greenery. Some of the alarming issues has been described with an example of one of the oldest and the most beautiful necropolis in Poland - the cemetery on Lipowa Street in Lublin.

Keywords: cemeteries, transformations and protection perspectives landscape's.

WSTĘP

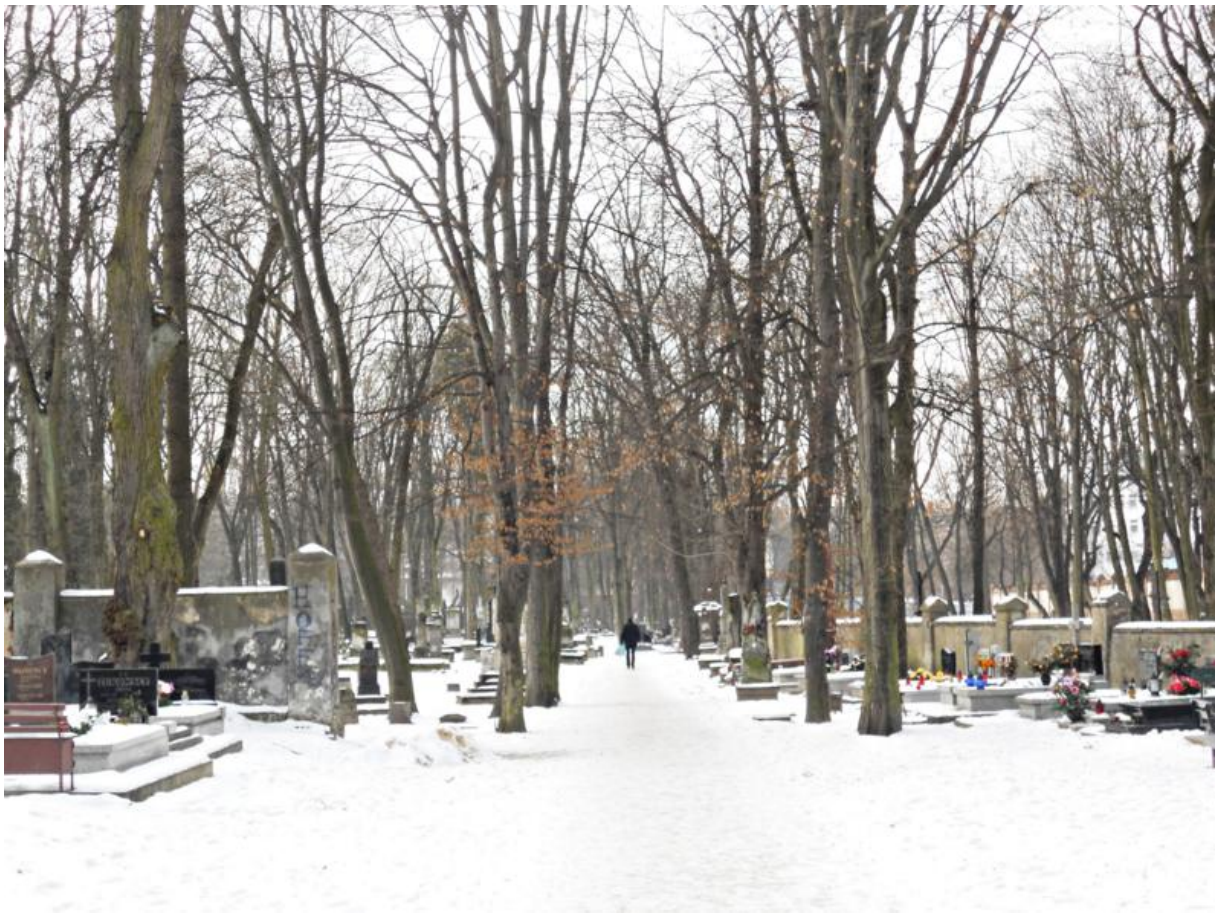
Cmentarze istnieją w świadomości ludzkiej jako miejsca szczególne – miejsca w których teraźniejszość styka się z przeszłością (ŁAGUNA, 2006). Jako istotne zjawisko kulturowe są one nie tylko świadectwem losów ludzi na nich pogrzebanych, ale także wizją żyjących w danym okresie społeczeństw, ich stosunku do otoczenia oraz podejścia do tematu życia i śmierci (DŁUGOZIMA, 2011). Stanowisko to można rozpatrywać w wielu ujęciach, przy czym z punktu widzenia architektury krajobrazu najbardziej istotny jest kontekst krajobrazowy i kompozycyjny. W obrębie tych zagadnień dochodzi obecnie do szeregu zaniedbań, takich jak: niewłaściwe usytuowanie nagrobków nowo powstałych względem istniejących, łamanie przepisów dotyczących wielkości miejsc pochówku oraz odległości między nimi, brak działań konserwatorskich zarówno w zakresie zabytkowych nagrobków jak również szaty roślinnej cmentarzy. Lekceważenie tych kwestii prowadzi do zacierania się lub zniekształcania dawnych układów przestrzenno – kompozycyjnych nekropolii czego konsekwencją są negatywne przemiany w historycznych formach krajobrazu cmentarzy w Polsce. Do najbardziej znaczących można zaliczyć usuwanie zabytkowych nagrobków oraz drzewostanu, standaryzację współczesnych nagrobków, zacieranie dawnych układów kompozycyjnych w zakresie rozmieszczenia alei, miejsc pochówku zmarłych, oraz roślinności, a także zmiany w obrębie składu gatunkowego roślin wykorzystywanych do nasadzeń cmentarnych.

Niepokojący stan przeobrażeń krajobrazu cmentarzy polskich w wyraźny sposób zarysowuje się na terenie cmentarza przy ulicy Lipowej w Lublinie – jednej z najpiękniejszych i najstarszych nekropolii w Polsce, nazywanej „cmentarzem trzech wyznań". (DĄBSKI, OLEŚ, 2006). Nazwa ta ukształtowała się ze względu na wielonarodowościowy i wielowyznaniowy charakter założenia, w skład którego wchodzą: cmentarz rzymsko-katolicki, ewangelicko – augsburski, prawosławny oraz wojskowo – komunalny (DĄBSKI, OLEŚ, 2006).

HISTORIA POWSTANIA CMENTARZA

Historia powstania tego miejsca jest związana z zarządzeniem Komisji Policji z 1772 roku, które nakazywało delokalizację cmentarzy poza miasto. W związku z tym w 1774 roku władze miasta wykupiły trzy morgi gruntu od Zgromadzenia Panien Brygidek Lubelskich i przeznaczyły je na nowy cmentarz (DĄBSKI, OLEŚ, 2006). Pieczę nad tym założeniem w 1839 roku przejęły zarządy cywilne i kościelne, czyli tzw. Dozory Kościelne (http://1). Za sprawą Dozoru powstał unikatowy układ przestrzenny tego miejsca – wydzielono alejki, a przestrzeń podzielono na kwatery i sektory (http://1). W kolejnych latach kilkakrotnie dochodziło do stopniowego powiększania terenu cmentarza i w chwili obecnej zajmuje on powierzchnię 12 ha (DĄBSKI, OLEŚ, 2006). Lubelski cmentarz ze względu na wiekową tradycję stanowi ważny element historii Polski i Lublina. Jest on swego rodzaju dziełem sztuki z bogactwem wartości zabytkowych, przyrodniczych, kulturowych, społecznych i artystycznych. Ze względu na wyżej wymienione wartości w 1985 roku cmentarz został wpisany do rejestru zabytków województwa lubelskiego – nr rejestru: A/889 (http://2). Opiekę nad nim, dbając o ratowanie rzeźb nagrobków, sprawuje także Społeczny Komitet Odnowy Zabytków Lublina (http://3). W tym miejscu nasuwa się pytanie: czy istniejące współcześnie zabezpieczenia prawne dotyczące kształtowania przestrzeni cmentarnych, zapewniają odpowiednią ochronę tak cen-

nych przestrzennie układów? Sposób kształtowania cmentarzy dość szczegółowo określa Rozporządzenie Ministra Infrastruktury z dn. 7 marca 2008 r. jednak nadal istnieje duża dowolność w jego interpretacji (Dz.U. 2008 nr 48 poz. 284, PRZESMYCKA, 2006).



Fot. 1. Aleja lipowa, pozostałość dawnych układów kompozycyjnych na cmentarzu przy ul. Lipowej w Lublinie. [fot. M.Stróż].

STAN OBECNY UKŁADU PRZESTRZENNEGO CMENTARZA

W ostatnich latach uwidoczniła się tendencja do łamania przepisów dotyczących objętych normami wielkości miejsc pochówku oraz odległości między nimi. Czyni to z cmentarzy układy przestrzennie niespójne, sprawiające wrażenie nieuporządkowania. Niejednokrotnie osoby przychodzące na cmentarz, aby odwiedzić groby bliskich są zmuszone wchodzić na nagrobki, które usytuowane są zbyt blisko względem siebie. Problem niewłaściwych wymiarów czy rozmieszczenia miejsc pochówku nie jest aż tak rażący, jeśli weźmiemy pod uwagę inną, bardziej niepokojącą tendencję. Dotyczy ona faktu, że w ramach szukania miejsc na cmentarzach nierzadko usuwa się stare miejsca pochówku. Zgodnie z art.7 ustawy o cmentarzach i chowaniu zmarłych ponowne użycie grobu jest dozwolone po upływie 20 lat (Dz.U. 1959 Nr 11 poz. 62). Deficyt przestrzeni grzebalnych sprawia, że ściśle egzekwuje się ten przepis prawa, nawet w przypadku gdy grób jest nadal zadbany (PRZESMYCKA, 2006). W ten sposób jest niszczonych wiele zabytkowych nagrobków o niepowtarzalnej wartości plastycznej. Uwi-

dacznia się w ten sposób brak poszanowania dla miejsca wiecznego spoczynku, substancji zabytkowej nagrobków, oraz ich roli w zachowaniu specyfiki krajobrazu (PRZESMYCKA, 2006).

ARCHITEKTURA I FORMY WSPÓŁCZESNYCH NAGROBKÓW

Kolejny problem dotyczy niewłaściwego zagospodarowania nagrobków nowo powstałych względem istniejących, szczególnie w przypadku, gdy istniejące formy są wpisane na listę zabytków, bądź posiadają walory zabytkowe. Nierzadko historyczna stylistyka nagrobków jest niszczona przez wprowadzenie nowych, ujednoliconych wzorów (DŁUGOZIMA, 2011). Mowa tutaj o masywnych granitowych, marmurowych lub lastrykowych formach, które zarówno kolorystyką jak i kształtem odstają od artystycznych form z minionych wieków w zakresie sztuki nagrobnej. Stopniowo coraz bardziej uwidacznia się problem natury estetycznej dzisiejszych betonowo - lastrykowych nagrobków. Jest on bardzo powszechny i niestety trudny do rozwiązania. Z tego też powodu nierzadko polskie cmentarze wyglądają bardziej jak magazyny płyt nagrobnych, niż miejsca pochówku. Obserwując to zjawisko nasuwa się stwierdzenie, że polska sztuka nagrobna została umniejszona do poziomu taśmowej produkcji, a poszczególne jej wyroby są powtarzalne i pozbawione pierwiastka wyjątkowości. Na naszych oczach następują przewartościowania kulturowe, które prowadzą do upadku standardów estetycznych w sztuce sepulkralnej. Zanika chęć wyrażenia bólu po stracie bliskiej osoby w sposób nieszablonowy. Tendencja ta dotyczy nie tylko kształtu nagrobków oraz materiału z jakich są wykonane, ale także inskrypcji (DŁUGOZIMA, 2011). Dawniej były to starannie przemyślane sentencje, ściśle związane ze zmarłym, dzisiaj powielane wielokrotnie formuły zaplanowane przez zakład kamieniarski. Jest to dowód na to, że unifikacja, trwale wpisana w kulturę dzisiejszych czasów, jest widoczna niestety także w obrębie założeń cmentarnych (DŁUGOZIMA, 2011).

Fot. 2. Betonowe ,,pustynie nagrobków" na cmentarzu przy ul. Lipowej w Lublinie. [fot. M. Stróż].

ZIELEŃ W OBRĘBIE ZAŁOŻEŃ CMENTARNYCH

Kolejnym ważnym elementem cmentarnych przestrzeni, bardzo często marginalizowanym, jest zieleń. Według polskiego prawoznawstwa potwierdzonego przez zapis prawa kanonicznego: *„[…] cmentarz należy zorganizować jako teren zielony o założeniu parkowym. Zieleń cmentarna podlega specjalnej ochronie, przy czym sadzenie lub wycinanie drzew może nastąpić tylko w uzasadnionych przypadkach, wynikających z racjonalnego gospodarowania przestrzenią […]"* (ŁAGUNA, 2007). Obserwując zmiany jakie zachodzą w obrębie szaty roślinnej cmentarzy można zauważyć, że interpretacja tego przepisu jest wciąż bardzo luźna, natomiast pomiędzy normami prawnymi a stanem faktycznym istnieje wielka przepaść (PRZESMYCKA, 2006).

ROLA ZIELENI W ZAŁOŻENIACH CMENTARNYCH

Zieleń na cmentarzach od najdawniejszych czasów była ważnym komponentem nekropolii i z jej istnieniem wiąże się wiele funkcji. Roślinność podkreśla układ przestrzenny, wytycza kształt alei, łagodzi ostre kształty nagrobków stanowiąc ich obramowanie (http://4). Spełnia także funkcję sanitarną. Pomijając wszystkie walory estetyczne zieleń jest przede wszystkim elementem, który kształtuje nastrój, wycisza, pozwala powrócić myślą do tych, którzy odeszli (DĄBSKI, OLEŚ, 2006). Integralną część założeń cmentarnych stanowią przede wszystkim wysokie drzewa (PRZESMYCKA, 2006). Ich rozłożyste korony widoczne z daleka symbolizują miejsce pochówku zmarłych. Drzewa silnie oddziałują na krajobraz, wzbogacają go i niwelują monotonię terenów przyległych do cmentarzy (http://4). Niepokój budzi fakt, że element trwale wpisany w specyfikę założeń cmentarnych, a wręcz decydujący w znacznym stopniu o jego charakterze, jest tak bardzo deklasowany. W większości polskich cmentarzy wiekowe drzewa podobnie, jak i wiekowe nagrobki są usuwane a w ich miejscu lokuje się formy pozbawione treści symbolicznych (odmiany z gatunków *Thuja* i *Juniperus*). Formy takie wypełniają przestrzeń, ale nie łączą się z tradycją miejsc pamięci, mają pewne wartości estetyczne, jednak w otoczeniu cmentarnym tracą siłę oddziaływania. Bardzo trudno znaleźć adekwatny odpowiednik dla zastąpienia wiekowych drzew, które są przejawem swoistego piękna i których formy zbyt mocno wrosły w krajobraz cmentarzy polskich, aby je usuwać.

DRZEWOSTAN CMENTARZA PRZY ULICY LIPOWEJ

Na cmentarzu przy ulicy Lipowej wiekowe drzewa pełnią wyjątkową rolę, ponieważ związane są z historią tego miejsca. W XVIII w. teren nekropolii ze wszystkich stron był otoczony lipami, dlatego został nazwany „Pod Lipkami" (http://1). Również dojazd do cmentarza podkreśla aleja obsadzona drzewami z tego gatunku. W związku z tym od 1912 roku obowiązuje nazwa ulicy, związana z nasadzeniami lipowymi - „Lipowa" (DĄBSKI, OLEŚ, 2006). Takie odgrodzenie terenu cmentarza od terenów bezpośrednio z nim sąsiadujących pełniło funkcje nie tylko praktyczne, ale też symboliczne, oddzielając strefę sacrum od profanum (KOLBUSZEWSKI, 1996). Wielokrotne powiększanie powierzchni cmentarza doprowadziło do zniekształcenia jego symbolicznej formy i zatarcia

dawnych układów. Obecnie ślady zaplanowanej kompozycji widoczne są jedynie na cmentarzu wojennym, przy głównej alei lipowej, w pozostałej części nasadzenia są dziełem przypadku (DĄBSKI, OLEŚ, 2006). Niepokojące są nie tylko zmiany w układzie roślinności, ale także skład gatunkowy. Głównym przedstawicielem dendroflory cmentarza jest *Thuja occidentalis*, stanowi prawie 20 % ogólnej liczby drzew i krzewów. Wyprzedza ona ilościowo nawet lipę (*Tilia cordata*), która jest gatunkiem dominującym jedynie w części ewangelicko – augsburskiej, gdzie stanowi 29 % denroflory. Udział tego gatunku w ogólnej liczbie drzew i krzewów dla całego założenia wynosi jedynie 10 % (DĄBSKI, OLEŚ, 2006). Trudno jest zrozumieć ten kierunek zmian, bo przecież zarówno żywotniki jak i lipy należą do grupy roślin polecanych do nasadzeń cmentarnych. (DROZDEK, 2011). Zapanowała dziwna tendencja do ogałacania cmentarzy z wysokich drzew i zastępowania ich formami niższymi (PRZESMYCKA, 2006). Przeciwnicy wiekowych drzew znaleźliby zapewne wiele kontrargumentów, przemawiających za usuwaniem wiekowych drzew: system korzeniowy niszczący nagrobki, zaśmiecające przestrzeń liście, niebezpieczeństwo wyłamywania i opadania starych i uszkodzonych konarów. Są to realne zagrożenia i nie należy ich bagatelizować. Ważne jest tylko, aby obrać odpowiednie metody do przeciwdziałania tym zjawiskom – nie poprzez usuwanie zabytkowych drzew, ale ich konserwację i stałą opiekę (DĄBSKI, OLEŚ, 2006).

PODSUMOWANIE

Wygląd lubelskiego cmentarza jest przykładem na to, że przeobrażenia krajobrazu cmentarzy polskich zmierzają w złym kierunku. Niedobór przestrzeni grzebalnych oraz niskie zainteresowanie społeczeństwa zabytkowymi nekropoliami sprawiają, że cmentarze zamieniają się w betonowe pustynie nagrobków, zupełnie pozbawione zieleni (ŁAGUNA, 2007). Dawny krajobraz cmentarzy odchodzi w niepamięć. Brakuje długoterminowych planów, które umożliwiłyby racjonalne gospodarowanie tymi terenami. W zapale porządkowania usuwa się wszystko co stare i nadwerężone czasem. Znikają stare nagrobki, znikają wiekowe drzewa a wraz z nimi sacrum miejsca (ŁAGUNA, 2007). Należy podjąć działania, mające na celu zmianę kierunku przeobrażeń krajobrazowych cmentarzy tak, aby pozostawić kolejnym pokoleniom ślady naszej troski i aby znów aktualne stały się słowa Klementyny Hoffmanowej: „*Każdy cmentarz jest jakby ogrodem, takie w nim mnóstwo drzew, krzewów i kwiatów. To starannie rozjaśnia mieszkanie śmierci, przystęp daje nadziei.*" (KNAFLEWSKA, 2008). W trosce o zachowanie odwiecznego charakteru miejsc pamięci, należy zapobiegać standaryzacji współczesnych nagrobków. Zestawienie dwóch skrajnie różnych elementów – nowoczesnych, prymitywnych w formie i zastosowanym materiale „tworów" współczesnego przemysłu nagrobnego i wiekowych unikatowych form nagrobkowych zaburza równowagę i harmonię oraz w istotny sposób degraduje symbolikę sacrum (ŁAGUNA, 2007). Naturalnym zjawiskiem jest postęp dokonujący się w zakresie materiałów stosowanych do form upamiętniania zmarłych, jednak nie wolno dopuścić, aby kiczowate, pozbawione charakteru nagrobki zakłócały skalę i proporcje istniejących zabytkowych cmentarzy, do których należy właśnie lubelski cmentarz przy ulicy Lipowej.

LITERATURA

DĄBSKI M., OLEŚ A., 2006. *Analiza dendrologiczna zabytkowego cmentarza przy ulicy Lipowej w Lublinie.*[W:] *Przyroda i miasto.* Wyd. SGGW, Warszawa, 434 – 440.

DŁUGOZIMA A., 2011. *Cmentarze jako ogrody żywych i umar*łych. Warszawa.

DROZDEK M. E., 2011. *Rośliny do zadań specjalnych.* Wyd. PWSZ Sulechów – Kalsk, 233- 251.

KNAFLEWSKA J., 2008. *Kierunki zmian w zieleni cmentarnej.*[W:] *Materiały z konferencji Zieleń Cmentarna.* Poznań.

KOLBUSZEWSKI J., 1996. *Cmentarze.* Wyd. Dolnośląskie, Wrocław, 59 – 69.

RYLKE J., 2006. *Przyroda i miasto.* Wyd. SGGW, Warszawa, 419 – 455.

ŁAGUNA W., 2006. *Rola starych cmentarzy w strukturze małych miast na przykładzie miasta Dzierzgonia.*[W:] *Przyroda i miasto.* Wyd. SGGW, Warszawa, 421 – 433.

ŁAGUNA W., 2007. *Architektura cmentarzy jako zapomniane sacrum.*[W:] *Teka Komisji Architektury, Urbanistyki i Studiów Krajobrazowych.* Polska Akademia Nauk, Oddział w Lublinie, 82 – 93.

PRZESMYCKA E., 2006. *Wielokulturowość cmentarzy Lubelszczyzny, stan zachowania, perspektywy ochrony.*[W:] *Przyroda i miasto.* Wyd. SGGW, Warszawa, 449 – 455.

Dz.U. 2008 nr 48 poz. 284

Dz.U. 1959 Nr 11 poz. 62

NETOGRAFIA

1/ *http://www.cmentarz.lublin.pl* Stan informacji na 19 października 2013

2/ *http://www.lublin.eu/Cmentarze_-1-991.html* Stan informacji na 19 października 2013

3/ *http://www.skozl.lublin.pl* Stan na 19 października 2013 r.

4/*http://szsk.sggw.pl/?Sekcja_Sztuki_Sepulkralnej:MSTiR_prace_in%BFynierskie:Ziele%F1_cmentarna* Stan na 19 października 2013 r.

NaukiPrzyrodnicze

Numer 1 (1) 2013
Strony 41-52

MATEUSZ GORTAT

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu
Ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin
E-mail: mgortat@poczta.pl

BUDOWA ORAZ WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWDROBNOUSTROJOWE WYBRANYCH MONOTERPENÓW ZNAJDUJĄCYCH SIĘ W ROŚLINACH

STRESZCZENIE

W pracy omówiono budowę chemiczną, biosyntezę oraz właściwości związków zaliczanych do monoterpenów. Na postawie dostępnej literatury opisano skład olejków eterycznych oraz możliwości wykorzystania ich w walce z drobnoustrojami.

Słowa kluczowe: monoterpeny, właściwości przeciwbakteryjne, olejki eteryczne, związki lotne.

THE STRUCTURE AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF THE SELECTED MONOTERPENES FOUND IN PLANTS

SUMMARY

This paper describes the chemical structure, biosynthesis and properties of the compounds belonging to the monoterpenes. On the basis of the available literature describes the composition of essential oils and their possible use in the fight against microbes.

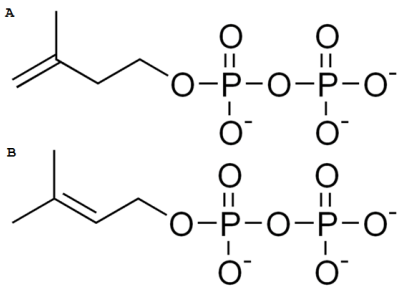
Keywords: monoterpenes, antibacterial properties, essential oils, volatile compounds.

WSTĘP

Terpenoidy (Izoprenoidy) można uznać za niewątpliwie jedną z najliczniejszych grup chemicznych. Zalicza się do niej co najmniej 30 tysięcy związków. Oprócz liczności grupa ta charakteryzuje się również znacznymi różnicami w budowie strukturalnej poszczególnych związków (CONNOLLY I HILL, 1991; DEWICK, 1999; DEWICK, 2002). Terpenoidy są to substancje naturalne pochodzące od aktywnego izoprenu (pięciowęglowego izopentenylodifosforanu). Monoterpeny stanowią bardzo szeroką grupę w skład której wchodzi około 400 związków chemicznych. Pięciowęglowa cząsteczka izoprenu (C5) stanowi prekursor do powstania monoterpenów. W zależności od ilości połączonych ze sobą cząsteczek izoprenu mogą powstać nie tylko monoterpeny (2 cząsteczki = C10), ale również seskwiterpeny (C15), diterpeny (C20), triterpeny (C30), tetraterpeny (C40), politerpeny (C5n) (FRAGA, 2006; HANSON, 2000; CONNOLLY I HILL, 2005; ŚLEDŹ I WITROWA-RAJCHERT, 2012). Związki terpenowe zaliczane są do metabolitów roślinnych. Rośliny produkują je w celach obronnych przed drobnoustrojami oraz aby odstraszyć zwierzęta (RAUSCHER, 2001; DUDAREVA I IN., 2006). Związki terpenowe, a zwłaszcza monoterpeny są składnikami olejków eterycznych (PERGENTINO DE SOUSA, 2006). Kształtują ich charakterystyczny zapach i smak. Lotne związki produkowane przez rośliny są szeroko wykorzystywane przez ludzi. Udowodniono, że większość z nich wykazuje szerokie działanie na organizmy żywe i środowisko. Monoterpeny mają zdolność hamowania rozwoju wielu szczepów bakteryjnych między innymi gronkowców i paciorkowców (KOMASZEWSKA, 2010). Olejki eteryczne zawierające między innymi terpeny stosuje się od dawna w farmakologii, kosmetologii i przemyśle spożywczym. Wykazują one znaczące właściwości dezynfekujące (WOLSKI I IN. 2004). Związki te są bardzo ważne dla roślin, które je produkują, oprócz tego że mogą odstraszać roślinożerne zwierzęta, mogą również wabić owady zapylające. Wykazują one również właściwości antyoksydacyjne w przypadku narażenia na nadmiar ozonu (LITVAK I MONSON, 1998; DUDAREVA I IN., 2004; LORETO I IN., 2004).

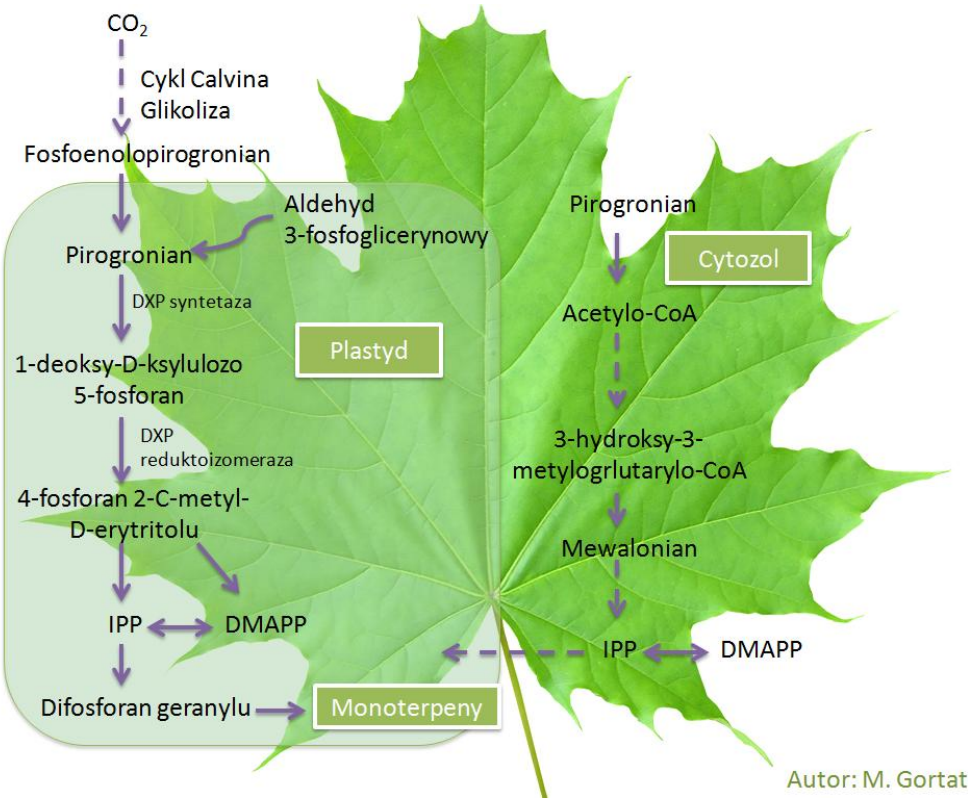
BUDOWA CHEMICZNA I BIOSYNTEZA MONOTERPENÓW

Terpeny to związki organiczne będące pochodną izopentenylodifosforanu (izoprenu, IPP) lub jego izomeru dimetyloallilodifosforanu (DMAPP) (Rys. 1.). Biosynteza IPP i DMAPP zachodzi w komórkach roślin na drodze dwóch oddzielnych szlaków. Przedstawiono je na rysunku 2. Pierwszy z nich zachodzi w cytozolu, gdzie syntetyzowane są IPP i DMAPP z cząsteczek acetylo-CoA na drodze metabolizmu kwasu mewalonowego (DUDAREVA I IN, 2006). Drugi szlak zachodzi w plastydach. Prekursorami do syntezy monoterpenów na tej drodze jest kwas pirogronowy i aldehyd-3-fosfoglicerynowy. Cząsteczki IPP i DMAPP powstałe na drodze szlaku zachodzącego w cytozolu są prekursorami seskwiterpenów, triterpenów, homoterpenów i politerpenów (EISENRICH I IN., 2001; OHARA, 2003; DUDAREVA I IN, 2006; GUTENSOHN I IN., 2013).

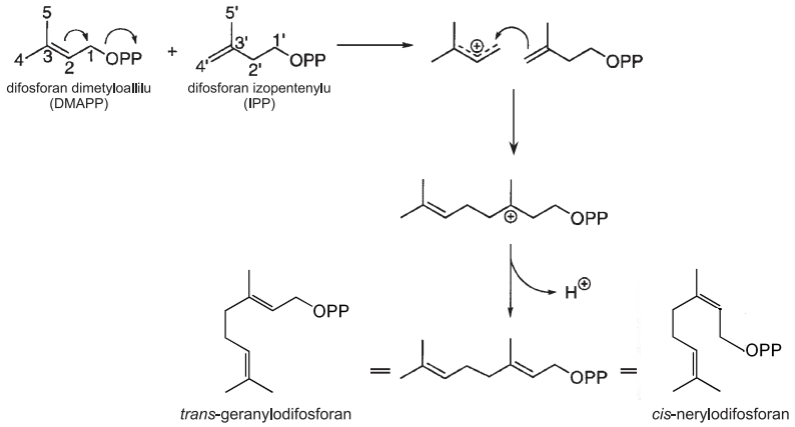


Rys. 1. Schemat cząsteczki A) izopentenylodifosforanu (IPP) oraz B) dimetyloallilodifosforanu (DMAPP).

Głównym etapem biosyntezy monoterpenów jest połączenie się IPP z DMAPP. Efektem tego jest powstanie dziesięciowęglowych izomerów cis i trans o otwartych łańcuchach (Rys. 3) Forma trans nosi nazwę geranylodifosforanu, natomiast forma cis to nerylodifosforan (MCMURRY, 2005). Przykłady substancji powstających z izomerów cis i trans przedstawiono na rysunku 4. Do najczęściej występujących w przyrodzie związków monoterpenowych należą R-(+)-limolen i α-pinen (TRYTEK I IN. 2007). Corocznie w lasach na całym świecie wytwarzanych jest 1,4 x 10^9 ton terpenów (PLESZCZYŃSKA, 2001), człowiek natomiast w ciągu roku zużywa około 2,8 x 10^5 kg monoterpenów. Wykorzystuje się je w przemyśle kosmetycznym, spożywczym i farmaceutycznym (SWIFT, 2004).

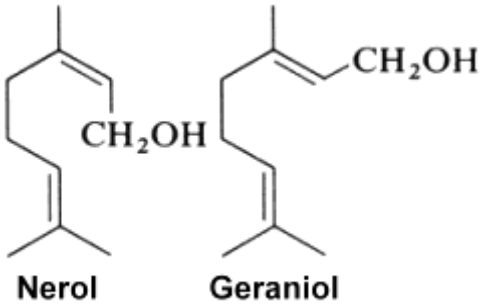


Rys. 2. Uproszczony schemat biosyntezy monoterpenów w komórkach roślinnych (opracowano na podstawie: LAULE I IN., 2003; DUDAREVA I IN, 2006).



Rys. 3. Biosynteza geranylodifosforanu i nerylodifosforanu (TRYTEK I IN. 2007).

Rys. 4. Związki powstające z izomerów trans-geranylodifosforanu i cis-nerylodifosforanu (opracowano na podstawie MCMURRY, 2005).



Rys. 5. Wzór cząsteczki nerolu i geraniolu.

WYKORZYSTANIE MONOTERPENÓW PRZEZ CZŁOWIEKA

Monoterpeny wykazują wszechstronne działanie na organizm człowieka (TRYTEK I IN., 2007). Do najbardziej zbadanych właściwości monoterpenów niewątpliwie należy zaliczyć ich oddziaływanie na drobnoustroje (WOLSKI I IN., 2004; BOLLINO, 2010; HOŁDERNA-KĘDZIAK, 2010). Wytwarzane przez rośliny olejki eteryczne są źródłem wielu związków terpenowych. Przedstawiono je w tab. 1.

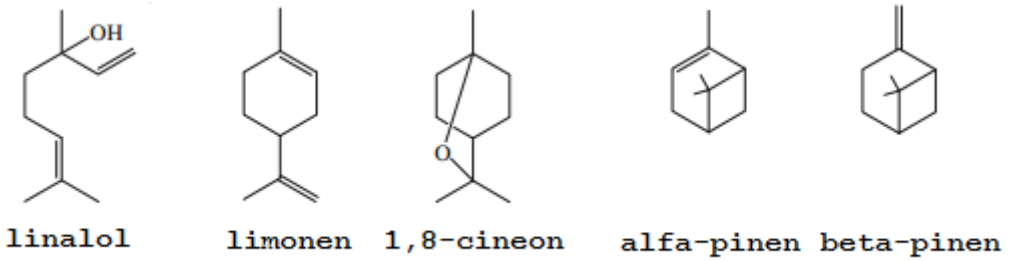
Warto zaznaczyć, że zawartość poszczególnych monoterpenów w olejkach bywa zależna od miejsca uprawy lub występowania roślin, z których są pozyskiwane (MARTINO I IN., 2009). Na ziemi istnieje ponad 2 tysiące gatunków roślin, które mają zdolność syntezy olejków eterycznych (WOLSKI I IN. 2004).

GATUNEK ROŚLINY WYTWARZAJĄCEJ OLEJKI ETERYCZNE	ELEMENT Z KTÓREGO POZYSKUJE SIĘ OLEJEK	ZAWARTOŚĆ TERPENÓW
Bazylia (*Ocimum basilicum*)	Liście	metalcavicolo, cineolo, linaiol
Bergamotka (*Citrus bergamia*)	Owoc	octan linalylu
Cynamon (*Cinnamonum verum*)	Gałązki	eugenol, safrol, octan eugenylu
Drzewo goździkowe (*Eugenia caryophillata*)	Kora, liście	eugenol, kariofilen
Lawenda (*Lavandula angustifolia*)	Kwiaty	octan linalylu, borneol, terpineol-4, linalyl, cineolo, linaiol
Cytryna (*Citrus limonum*)	Skórki z owoców	limonen, ß-pinen, gamma-tetrypinen, cytral
Cząber ogrodowy (*Santureja hortensis*)	Ziele	karwakrol, tymol, itosterina
Drzewo herbaciane (*Melaleuca alternifolia*)	Liście	terpinene, pinen, cineolo

Tab. 1. Obecność terpenów w wybranych gatunkach roślin (BOLLINO, 2010).

W badaniach prowadzonych in vitro, KĘDZIA I HOŁDERNA-KĘDZIA (2012) zaobserwowali, że silne działanie na drobnoustroje chorobotwórcze dla człowieka wykazywały: geraniol, cytronelol, mentol, kamfen, borneol, kamfora, tujon, β-kariofylen, α-bisabolol i chamazulen. Często wykorzystywane w przemyśle farmaceutycznym są wyciągi z tymianu i olejek tymiankowy. Znalazły one również zastosowanie w produkcji preparatów wykorzystywanych w stomatologii i leczeniu stanów zapalnych górnych dróg oddechowych. Na rynku dostępne są takie preparaty z tymiankiem jak Salviasept, Dentosept, Detosept A, Thymsal spray (KĘDZIA I IN., 2012). Skuteczność takich preparatów często wynika z długoletniej tradycji stosowania. Badania naukowe wskazują jednak, ze związki zawarte w tymianku i olejku tymiankowym mają silne działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i przeciwgrzybiczne (BHATTARAM I IN., 2002; GIAND, 2005; KĘDZIA I HOŁDERNA-KĘDZIA, 2007; SIENKIEWICZ I DENYS, 2008; ETEGHAD I IN., 2009; LIU I IN., 2009). SIENKIEWICZ i WASIELA (2012) porównując właściwości przeciwdrobnoustrojowe olejku tymiankowego i lawendowego wykazały znacznie silniejsze działanie olejku tymiankowego. Olejek pozyskiwany z tymianku pospolitego (*Thymus vulgaris* L.) zawiera monoterpeny, w tym najważniejszy tymol oraz p-cymen, α-pinen, β-pinen, α-terpinen, limonen, myrcen i alkohole terpenowe, takie jak linalol, octan linalolu, borneol, octan borneolu, α- terpineol i 1,8-cyneol (KĘDZIA I IN., 2012). Badania PARKA I IN. [2012] potwierdziły, że występujący w wielu roślinach linalol wykazuje właściwości bakteriobójcze w stosunku do bakterii wywołujących próchnicę i choroby zębów. Autorzy ci również wskazują na możliwość wykorzystywania tych związków w produkcji past od zębów. Przeciwbakteryjny mechanizm działania tymolu i linalolu polega na zaburzeniu struktury lipidowej błony komórkowej mikroorganizmów. Zmiany wywołane w strukturze błony komórkowej zwiększają jej przepuszczalność. Dzięki temu monoterpeny łatwiej dostają się do wnętrza komórki i hamują jej metabolizm co powoduje śmierć bakterii (TROMBETTA I IN., 2005). Wspomniany powyżej linalol jest obecny w olejkach otrzymywanych z ponad dwustu ziół, kwiatów i drzew (PEANA I MORETTI, 2008). Linalol jest charakterystycznym składnikiem olejku z kwiatów lawendy wąskolistnej (*Lavandula angustifolia* Miller). Zawartość tego związku w lawendzie sięga 30%. Ponadto w olejku lawendowym znajdują się: octan linalolu (do 60%), limonen, β-ocymen, 1,8-cyneol, kamfora, α-terpineol, borneol oraz wiele innych związków wykazujących aktywność biologiczną (NARTOWSKA, 2012). Badania prowadzone zarówno na ludziach jak i na zwierzętach wskazały, że związki zawarte w olejku lawendowym w tym linalol wykazują działanie uspokajające, relaksujące, ułatwiające zasypianie oraz spazmolityczne w dolegliwościach przewodu pokarmowego (PEANA I MORETTI, 2008; NARTOWSKA, 2012). Warto zwrócić uwagę, że olejek lawendowy z powodzeniem może być używany jako repelent do odstraszania owadów (np. komarów, moli) (NERIO I IN., 2010). Związki zawarte w olejku lawendowym wykazują zdolność hamowania rozwoju bakterii chorobotwórczych. Działanie to jednak należy określić jako słabe (NARTOWSKA, 2012). Najobficiej występującym monoterpenem w przyrodzie jest limonen. Znajduje się on w olejku miętowym, cytrynowym, pomarańczowym i kminkowym (DUETZ I IN., 2003; KĘDZIA I IN., 2013). Stanowi on 90% substancji wchodzących w skład olejków eterycznych pozyskiwanych z cytrusów (SCHRADER I IN., 2004). Wyniki wielu doświadczeń wskazują, że limonen wykazuje działanie immunostymulujące. Pobudza on produkcję przeciwciał, białych krwinek. Wpływa również na aktywność makrofagów (HAMADE I IN., 2002; RAPHAEL I KUTTAN, 2003). OMRAN I IN (2011) porównywali właściwości przeciwgrzybiczne limonenu i ekstraktu

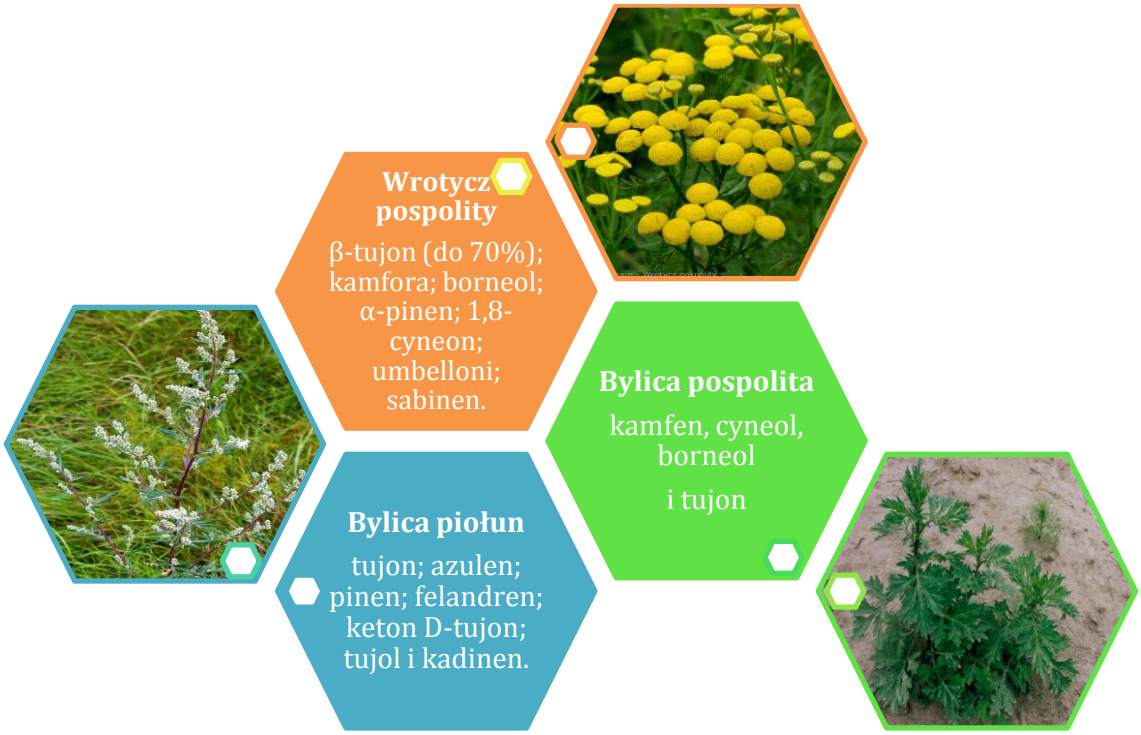
ze skórek pomarańczy. Okazuje się, że limonen działał hamująco na rozwój grzybów, podczas gdy ekstrakt ze skórek pomarańczy takiego działania nie wykazywał. Limonen jest związkiem lotnym, co może wskazywać na duże straty tej substancji podczas przygotowania i stosowania ekstraktu (PORBAFRANI I IN., 2010).



Rys. 6. Wzory wybranych monoterpenów.

Kolejnym związkiem terpenowym o interesującym działaniu jest tujon. Stanowi on jeden z głównych składników olejków eterycznych produkowanych przez bylicę pospolitą (*Artemisia vulgaris*), piołun (*Artemisia absinthium*) oraz wrotycz pospolity (*Tanacetum vulgare*). Wysoką zawartością α- i β-tujonu charakteryzuje się również szałwia lekarska (*Salvia officinalis* L.) (WOLSKI I IN., 2001). Badania prowadzone nad bakteriobójczym działaniem potwierdziły jego skuteczność w walce z bakteriami (MILADINOVIĆ I MILADINOVIĆ, 2000; WOLSKI I IN., 2001; KĘDZIA, 2006; KĘDZIA I HOŁDERNA-KĘDZIA, 2012). Warto wspomnieć, że olejki bogate w tujon działają odstraszająco na pasożyty oraz owady. Tujon z powodzeniem może być wykorzystywany jako repelent odstraszający muchy (*Musca domestica*) (JUDZENTIEN I BUZELYTE, 2006). Należy jednak pamiętać, że tujon wykazuje znaczną toksyczność (nefrotoksyczność, neurotoksyczność) dlatego stosując go należy zachować ostrożność i nie przekraczać zalecanych dawek. U kobiet w ciąży tujon może wywołać poronienie (ABAD I IN., 2012).

Składnikiem olejku eterycznego pozyskiwanego z cynamonowca kamforowego (*Cinnamomum camphora*) jest kamfora. Substancja ta była znana i ceniona od czasów starożytnych. W okresie epidemii dżumy olejek kamforowy stosowano w leczeniu chorych. Mimo iż, jest uważany za związek trujący używa się go zewnętrznie z uwagi na właściwości przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe. Działa ona owadobójczo (CHEN I IN., 2013). Kamfora podobnie jak tujon może być również wykorzystywana w profilaktyce i leczeniu kokcydiozy, choroby wywoływanej przez pasożyty z rodzaju Eimeria (ALLEN I IN., 1997; CHEN I IN., 2013). Z punktu widzenia ekonomicznego choroba ta jest szczególnie dotkliwa dla hodowców drobiu (BERAA I IN., 2010).



Rys. 7. Terpeny występujące w olejkach eterycznych z wybranych roślin (DERDA I IN., 2012; TRĄBKA I IN., 2012).

PODSUMOWANIE

Monoterpeny to duża grupa związków lotnych, występujących w olejkach eterycznych pozyskiwanych z wielu roślin. Skuteczność tych związków wynikająca z długoletniej praktyki stosowania w ostatnich latach jest potwierdzana przez liczne badania naukowe. Niemal wszystkie związki terpenowe mają zdolność hamowania rozwoju drobnoustrojów. Działanie niektórych z nich jest bardzo silne co pozwala na wykorzystywanie ich w produkcji leków oraz środków dezynfekujących. Badania prowadzone w ostatnich latach podnoszą również kwestię wpływu monoterpenów znajdujących się w żywności na korzystną florę bakteryjną jelit. Nieliczne ze związków terpenowych, jak np. tujon, mogą przy niewłaściwym stosowaniu stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzi. Większość z tych związków znana jest od dawna. Wnikliwe badania dotyczące ich właściwości mogą się okazać niezmiernie przydane w różnych gałęziach medycyny.

LITERATURA

ABAD M. J., BEDOYA L. M., APAZA L., BERMEJO P., 2012. *The Artemisia L. Genus: A Review of Bioactive Essential Oils.* Molecules. 17, 2542-2566.

ALLEN P.C., LYDON J., DANFORTH H.D., 1997. *Effect of component of Artemisia annua on coccidia infections in chickens.* Poul. Sci. 76(8). 1156-1163.

BERAA A.K., BHATTACHARYAA D., PANA D., DHARAB A., KUMARC S., DASA S.K., 2010. *Evaluation of Economic Losses due to Coccidiosis in Poultry Industry in India.* Agricultural Economics Research Review. Vol. 23. 91-96.

BHATTARAM V.A., GRAEFE U., KOHLERT C., VEIT M, DERENDORF H., 2002. *Pharmacokinetics and bioavailability of herbal medicinal products.* Phytomed. 9 (Suppl 3):1-33.

BOLLINO G., 2010. *Perspektywy zastąpienia antybiotyków syntetycznych antybiotykami pochodzenia naturalnego w konserwacji nasienia ssaków.* Wiadomości Zootechniczne, R. XLVIII 1: 3–7.

CHEN W., VERMAAK I., VILJOEN A., 2013. *Camphor—A Fumigant during the Black Death and a Coveted Fragrant Wood in Ancient Egypt and Babylon—A Review.* Molecules.18, 5434-5454.

CONNOLLY J.D., HILL R.A., 2005. *Triterpenoids.* Nat. Prod. Rep. 22. 487–503.

CONNOLLY J.D., HILL, R.A., 1991. *Dictionary of Terpenoids.* Chapman and Hall, London.

DERDA M., HADAŚ E., THIEM B., WOJT W. J., WOJTKOWIAK-GIERA A., CHOLEWIŃSKI M., SKRZYPCZAK Ł., 2012. *Tanacetum vulgare L. Jako roślina o potencjalnych właściwościach Leczniczych w acanthamoeba keratitis.* Nowiny Lekarskie. 81, 6, 620–625.

DEWICK P. M., 2002. *The biosynthesis of C5-C25 terpenoid compounds.* Nat. Prod. Rep. Vol.19. 181-222.

DEWICK P.M., 1999. The biosynthesis of C-5-C-25 terpenoid compounds. Nat. Prod. Rep. Vol. 16, 97–130.

DUDAREVA N., NEGRE F., NAGEGOWDA D. A., ORLOVA I., 2006. *Plant volatiles: recent advances and future perspectives.* Crit. Rev. Plant Sci. 25. 417-440.

DUDAREVA N., PICHERSKY E., GERSHENZON J., 2004. *Biochemistry of plant volatiles.* Plant Physiol., 135, 1893–1902.

DUETZ W. A., BOUWMEESTER H., VAN BEILEN J. B., WITHOLT B., 2003. *Biotransformation of limonene by bacteria, fungi, yeasts, and plants.* Appl Microbiol Biotechnol 61:269–277.

EISENRICH W., ROHDICH F., BACHER A., 2001. *Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids.* Trends in Plant Science, 6, 78-84.

ETEGHAD S. S., MIRZAEI H., POUR S. F., 2009. *Inhibitory effects of endemic Thymus vulgarisand Mentha piperita essential oils on Escherichia coli 0157:H7.* Res J Biol Sci. 4(3):340-4.

FRAGA B.M., 2006. *Natural sesquiterpenoids.* Nat. Prod. Rep. 23. 943–972.

GIAUD R. A. M., 2005. *The role of aromatherapy in the treatment of viral hepatitis.* Intern. J. Aromather. 15. 182-92.

GUTENSOHN M., NAGEGOWDA D. A., DUDAREVA N., 2013. *Involvement of Compartmentalization in Monoterpene and Sesquiterpene Biosynthesis in Plants.* Springer Science. New York. 155-169.

HAMADA M., UEZU K., MATSUSHITA J., YAMAMOTO S., KISHINO Y., 2002. *Distribution and immune responses resulting from oral administration of D- limonene in rats.* J. Nutr. Sci. Vitaminol (Tokyo). 48, 155-160.

HANSON J.R., 2000. *Diterpenoids.* Nat. Prod. Rep. 17. 165–174.

HOŁDERNA-KĘDZIA E., 2010. *Działanie substancji olejkowych na bakterie i grzyby.* Postępy Fitoterapii 1. 3-8.

JUDZENTIEN A., BUZELYTE J., 2006. *Chemical composition of essential oils of*

Artemisia vulgaris L. (mugwort) from North Lithuania. CHEMIJA. T. 17. Nr. 1. P. 12–15

KĘDZIA A., 2006. *Aktywność olejku szałwiowego wobec bakterii beztlenowych.* Postępy Fitoterapii 2. 66-70.

KĘDZIA A., DERA-TOMASZEWSKA B., ZIÓŁKOWSKA-KLINKOSZ M., KĘDZIA A. W., KOCHAŃSKA B., GĘBSKA A., 2012. *Aktywność olejku tymiankowego (Oleum Thymi) wobec bakterii tlenowych.* Postępy Fitoterapii 2. 67-71.

KĘDZIA A., ZIÓŁKOWSKA-KLINKOSZ M., WOJTASZEK-SŁOMIŃSKA A., KĘDZIA A.W., KUSIAK A., WŁODARKIEWICZ A., 2013.*Działanie in vitro olejku kminkowego (Oleum Carvi) wobec bakterii beztlenowych.* Postępy Fitoterapii 1. 3-7.

KĘDZIA B., HOŁDERNA-KĘDZIA E., 2007. *Badanie wpływu olejków eterycznych na bakterie, grzyby i dermatofity chorobotwórcze dla człowieka.* Postępy Fitoterapii 2:71-7.

KĘDZIA B., HOŁDERNA-KĘDZIA E., 2007. *Badanie wpływu olejków eterycznych na bakterie, grzyby i dermatofity chorobotwórcze dla człowieka.* Postępy Fitoterapii. 2:71-7.

KĘDZIA B., HOŁDERNA-KĘDZIA E., 2012. *Działanie terpenów roślinnych na drobnoustroje.* Postępy Fitoterapii 4. 226-229.

KOMASZEWSKA E., 2010. *Naturalne antybiotyki.* Aptekarz Polski. Nr 51/29 (online).

LAULE O., FUTHOLZ A., CHANG H. S., ZHU T., WANG X., HEIFETZ P. B., 2003. *Cross talk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis in Arabidopsis thaliana.* Plant Biol. Vol.100. 6866-6871.

LITVAK M., MONSON R., 1998. *Patterns of induced and constitutive monoterpene production in conifer needles in relation to insect herbivory.* Oecologia, 114, 531–540.

LIU X., WANG L. P., LI Y. C., LI H. Y., YU T., ZHENG X. D., 2009. *Antifungal activity of thyme oil against Geotrichum citriaurantii in vitro and in vivo.* J. Appl. Microbiol. 107(5):1450-6.

LORETO F., PINELLI P., MANES F., KOLLIST H., 2004. *Impact of ozone on monoterpene emissions and evidence for an isoprene-like an-tioxidant action of monoterpenes emitted by Quercus ilex.* Tree Physiol., 24, 361–367.

MARTINO L., FEO V., FORMISANO C., MIGNOLA E., SENATORE F., 2009. *Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Three Chemotypes of Origanum vulgareL. ssp. hirtum(Link) Ietswaart Growing Wild in Campania (Southern Italy).* Molecules. 14, 2735-2746.

MCMURRY J., 2005. Chemia organiczna. PWN. 5. 1035-1045.

MILADINOVIĆ D., MILADINOVIĆ L., 2000. *Antimicrobial activity of essential oil of sage from Serbia.* Physics, Chemistry and Technology Vol. 2, No 2. 97 – 100.

NARTOWSKA J., 2012. *Lawenda- nie tylko pachnidło.* Panacea. Nr 3 (40). 5-7.

NERIO L.S., OLIVERO-VORBEL J., STASHENKO E., 2010. *Repellent activity of essentail oils: a reviev.* Bioresource Technol. 101.372-8.

OHARA K., UJIHARA T., ENDO T., SATO F., YAZAKI K., 2003. *Limonene production in tobacco with Perilla limonene synthase cDNA.* J. Exp. Bot. 54. 2635.

OMRAN S. M., MOODI M. A., AMIRI S. M. B. N., MOSAVI S. J., SAEED S. A. M. G. M., SHIADE S. M. J., KHERADI E., SALEHI M., 2011. *The Effects of Limonene and Orange Peel Extracts on Some Spoilage Fungi.* International Journal of Molecu-

lar and Clinical Microbiology. 1. 82-86.

SCHRADER J., ETSCHMANN M. H. W., SELL D., HILMER J. M., RABENHORST J., 2004. *Applied biocatalysts for the biosynthesis of natural flavor compounds-current industrial processes and future prospects.* Biotechnol. Lett. 26. 463-472.

PARK S. N., LIM Y. K., FREIRE M. O., CHO E., JIN D., KOOK J.K., 2012. *Antimicrobial effect of linalool anda-terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria.* Anaerobe XXX .1-4.

PAULI A., 2006. *Anticandidal low molecular compounds from higher plants with special reference to compounds from essential oils.* Med. Res. Rev. 26(2):263-8.

PEANA A. T., MORETTI M. D. L., 2008. *Linalool in Essential Plant Oils: Pharmacological Effects.* Bot. Med. Chap. 79. 716-724.

PERGENTINO DE SOUSA D., GONCALVES J.C.R., QUINTANS-JUNIOR L., CRUZ J.S., MACHADO ARAUJO D.A., NOBREGA DE ALMEIDA R., 2006. *Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents.* Neuroscience Letters. 401. 231-235.

PLESZCZYŃSKA M., 2001. *Perspektywy zastosowania biotechnologii w produkcji lotnych związków smakowo-zapachowych.* Żywność, Nauka, Technologia, Jakość, 1, 14-25.

POURBAFRANI M., FORGACS G., HORVATH I.S., NIKLASSON C., 2010. *Production of biofuels, limonene and pectin from citrus wastes.* Bioresource Tech. 101, 4246-4250.

RAPHAEL T.J., KUTTAN G., 2003. *Immunomodulatory activity of naturally occurring monoterpenes carvone, limonene and perillic acid.* Immunopharmacol. Immunotoxicol. 25, 285-294.

RAUSHER M.D., 2001. *Coevolution and plant resistance to natural enemies.* Nature. Vol. 411. 857-864.

SIENKIEWICZ M., DENYS A., 2008. *Działanie terapeutyczne olejków eterycznych.* Acta Clin Morphol. 1:34-41.

SIENKIEWICZ M., WASIELA M., 2012. *Aktywność olejków tymiankowego i lawendowego wobec opornych na antybiotyki szczepów klinicznych Pseudomonas aeruginosa.* Postępy Fitoterapii 3. 139-145.

ŚLEDŹ M., WICHROWA-RAJCHERT D., 2012. *Składniki biologicznie czynne w suszonych ziołach-czy ciągle aktywne?* Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych. 2 (295). 319-329.

SWIFT K. A. D., 2004. *Catalytic Transformations of the Major Terpene Feedstocks: Catalytic Conversion of Renewables.* Topics in Catalysis, 27, 143-155.

TRĄBKA C., ROGUT K., WOLAŃSKI P., 2012. *Rośliny dziko występujące i ich zastosowanie. Przewodnik po wybranych gatunkach.* Wyd. PRO CARPATHIA. Rzeszów.

TROMBETTA D., CASTELLI F., SARPIETRO M. G., VENUTI V., CRISTANI M., DANIELE C., SAIJA A., MAZZANTI G., BISIGNANO G., 2005. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrob. Agents Chemother. 49:2474–2478.

TRYTEK M., PADUCH R., FIEDUREK J, KANDEFER-SZERSZEÑ M., 2007. *Monoterpeny – stare związki, nowe zastosowania i biotechnologiczne metody ich otrzymywania.* Biotechnologia. 1 (76). 135-155.

WOLSKI T., HOŁDERNA-KĘDZIA E., LUDWICZUK A., 2001. *Ocena składu chemicznego oraz aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków eterycznych i preparatów galenowych otrzymywanych z liści rozmarynu i szałwii lekarskiej.* Postępy Fitoterapii 4. 6-11.

WOLSKI T., NAJDA A., HOŁDERNA-KĘDZIA E., 2004. *Zawartość i skład olejków eterycznych oraz ekstraktów otrzymanych z owoców niektórych roślin z rodziny Umbelliferae (Apiaceae)wraz ze wstępną oceną przeciwbakteryjną ekstraktów.* Postępy Fitoterapii. 3. 119-125.