

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Oddział Kształcenia
Podyplomowego Wydziału
Farmaceutycznego

ul. Narutowicza 60

90-136 Łódź

Praca w ramach specjalizacji z farmacji aptecznej

Mgr farmacji Katarzyna Świątek

Ektoina – cząsteczka naturalnego pochodzenia

o szerokim zastosowaniu

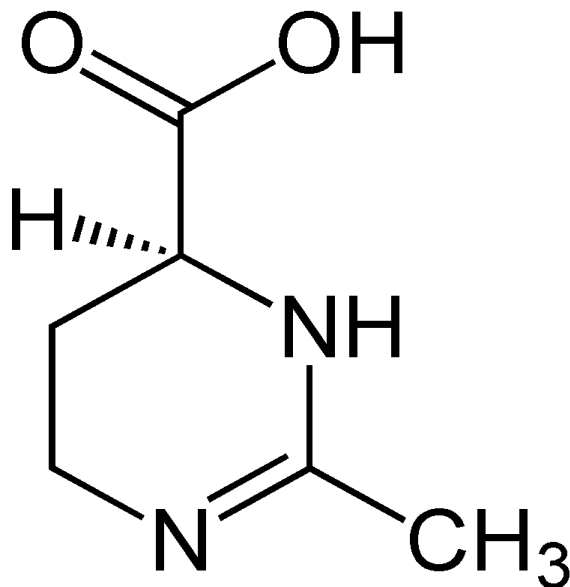
Łódź 2020

1. Wstęp

Ektoina jako składnik preparatów farmaceutycznych znana jest stosunkowo niedługo. Jednak mając na uwadze fakt, w jakich sytuacjach i gdzie jest wytwarzana istnieje w środowisku naturalnym od zawsze. Od kilku lat zainteresowanie tą substancją wzrasta. Ektoina wykazuje działanie przeciwalergiczne, przeciwzapalne i nawilżające. Obecnie zastosowanie znajduje głównie w preparatach stosowanych przy alergicznym nieżycie nosa i atopowym zapaleniu skóry. Mając na uwadze udowodnioną skuteczność działania i wysoki profil bezpieczeństwa przeprowadzane są badania w kierunku zastosowania ektoiny w terapii innych jednostek chorobowych. Są to np. POCHP, choroba Alzheimera, choroba Creutzfeldta-Jakoba, wirus HIV.

2. Ektoina – co to jest?

Ektoina to organiczny związek chemiczny (aminokwas cykliczny), który produkowany jest w warunkach naturalnych przez ekstremofile (specyficzne mikroorganizmy żyjące wyłącznie w bardzo trudnych warunkach środowiska: w gejzerach, słonych jeziorach i na pustyniach).



Ektoina (kwas 1,4,5,6-tetrahydro-2-metylo-4-pyrimidynokarboksyłowy) posiada wzór sumaryczny $C_6H_{10}N_2O_2$ a jej masa molowa wynosi 142,16 g/mol (1). Jest to substancja krystaliczna, bezbarwna charakteryzująca się lekko higroskopijnymi właściwościami. Bardzo dobrze rozpuszcza się w rozpuszczalnikach polarnych: woda, metanol. Stabilna jest w szerokim zakresie wartości pH 1-9, przy wartościach pH obojętnego przyjmuje formę jonu obojnaczego. Odporna jest na bardzo wysokie jak i niskie temperatury (2). Przechowywana w temperaturze pokojowej zachowuje trwałość ok. 4 lat.

Ektoina produkowana jest przez wiele ekstremofilnych gatunków bakterii jak np.

- Halobacterium halobium,
- Halomonas elongata,
- H. halmophila,
- H. variabilis,
- H. boliviensis,
- Bacillus alcalophilus,
- B. agaradhaerens

w celu ochrony przed niekorzystnymi warunkami (3). Substancja ta pozwala przetrwać bakteriom w sytuacji ograniczonego dostępu wody, wysokiej temperatury. Chroni również przed promieniowaniem ultrafioletowym.

3. Synteza ektoiny

Proces syntezy ektoiny inicjowany jest przez ekstremalne warunki środowiska, w którym żyją bakterie, a hamowany w momencie kiedy czynnik stresowy przestaje oddziaływać na mikroorganizm. Warunki naturalne, które sprzyjają produkcji ektoiny to skrajne wartości temperatur (zarówno wysokie jak i niskie), wysoki stopień zasolenia i obecność czynników, które niekorzystnie wpływają na wzrost bakterii (2). W warunkach laboratoryjnych substancja ta może być pozyskiwana poprzez syntezę chemiczną lub metodą biotechnologiczną. Synteza chemiczna jest bardzo skomplikowana i składa się z 22 etapów. Wartość tak wyprodukowanej ektoiny to ok 190 tysięcy zł. za kilogram. Metoda biotechnologiczna przy udziale mikroorganizmów jest zdecydowanie prostsza i tańsza. Koszt kilograma ektoiny wyprodukowanej drugą metodą to ok 2,5 tysiąca zł (4). Duży wkład w badania nad tą substancją wnieśli naukowcy z KUL w Lublinie. Syntezę przeprowadzają przy użyciu bakterii metanotroficznym pozyskiwanych z lubelskiej

kopalni węgla kamiennego “Bogdanka” (5). Ogromną zaletą tejże metody jest zdolność uwalniania ektoiny z komórki za pomocą metody “downshock”, czyli w trakcie trwania wywołanego stresu (np. poprzez zasolenie) bez konieczności lizy komórki (4).

4. Właściwości ektoiny

Ektoina zalicza się do osmoprotektantów, czyli kompatybilnych substancji rozpuszczonych, które bardzo silnie wiążą cząsteczki wody. Wytwarzana jest, gdy ciśnienie wewnątrz komórek niektórych bakterii niepokojąco wzrasta i zapobiega wtedy utracie wody. Może gromadzić się w komórkach w wysokich stężeniach, nie mając jednocześnie wpływu na fizjologiczne procesy mikroorganizmu (6). Ektoina poprzez wiązanie wody tworzy ochronny wodny płaszcz wokół najważniejszych struktur komórkowych. W podobny sposób oddziałuje na komórki ludzkiego organizmu. Zaliczana do osmolitów reguluje gospodarkę wodno - elektrolitową. Nagromadzone osmoprotektanty odpowiadają za objętość i turgor komórek, czyli prawidłowe napięcie ściany komórkowej (3,7). Chroni również przed wysokim zasoleniem, promieniowaniem UV, promieniami jonizującymi jak również przed innymi czynnikami, które mogłyby mieć negatywny wpływ na komórkę.

5. Zastosowanie ektoiny

W związku z wyżej wymienionymi właściwościami ektoina ma szerokie zastosowanie w biotechnologii. Wykorzystuje się ją do stabilizacji enzymów, ochrony struktury DNA i białek. Stabilizujące właściwości ektoiny badane były w różnych enzymatycznych procesach.

Najważniejsze zastosowania to:

- ochrona przed stresem związanym z zamrażaniem i rozmrażaniem immunotoksyn. Nienatywne i nierozpuszczalne białka mogą ulec częściowej denaturacji a w obecności osmoprotektantów ulegają regeneracji.
- może pełnić rolę wzmacniacza w reakcjach PCR. Nowa syntetyczna pochodna ektoiny (homoektoina) zwiększa specyficzność PCR nawet o 100%.
- ochrona przed degradacją białek rekombinowanych, zamrażaniem i agregacją.
- termostabilizacja in vitro syntetazy cyjanoficynowej, która pełni rolę materiału zapasowego sinic.
- termostabilizacja fitazy (enzymu katalicznego), która reguluje procesy życiowe, a wytwarzana jest przez każdy żywy organizm.
- poprawa jakości mikromacierzy DNA.
- ochrona błony komórkowej przed środkami powierzchniowo czynnymi (2).

Z punktu widzenia farmaceuty a jednocześnie pacjenta bardziej fascynuje mnie zastosowanie ektoiny w medycynie. Ze względu na właściwości ochronne na komórki, może być stosowana w celu zapobiegania niektórym chorobom. Obecnie największe zastosowanie ma w preparatach stosowanych w chorobach o podłożu **alergicznym**: zarówno w laryngologii jak i dermatologii. Również w tych dziedzinach było najwięcej przeprowadzonych na obecną chwilę badań.

Bardzo obiecujące wyniki uzyskano podczas przeprowadzonego badania porównującego spray i krople do oczu zawierającego ektoinę do sprayu do nosa i kropli do oczu zawierających azelastynę i sprayu do nosa z kwasem kromoglikanowym w leczeniu alergicznego nieżyty nosa (8). Alergiczny nieżyt nosa jest to bardzo powszechne schorzenie dotykające nawet do 20 % ludzkości. Alergia w bardzo znaczący sposób wpływa negatywnie na jakość naszego życia. Mamy problemy ze snem, nauką, uprawianiem sportu, zmniejsza się również nasza wydajność w pracy. Najczęstsze objawy to: zatkany nos, swędzenie i nieżyt nosa, spływanie wydzieliny po tylnej ścianie gardła. Bardzo często alergicznemu nieżytowi nosa towarzyszą objawy oczne jak np. łzawienie, zaczerwienienie, świąd i obrzęk powiek. Osoby, które cierpią na tego rodzaju

przypadłości próbują różnych sposobów, zarówno w celu zapobiegania jak i leczenia już występujących objawów. Najczęściej alergiczny nieżyt nosa leczymy za pomocą leków przeciwhistaminowych, stosowanych zarówno miejscowo jak i doustnie, antagonistów receptora leukotrienowego, glikokortykosteroidów podawanych do nosa oraz kwasu kromoglikanowego. Azelastyna to lek przeciwhistaminowy II generacji stosowany miejscowo w postaci kropli do oczu lub aerozolu do nosa. Efektem niepożądanym przy stosowaniu tego leku może być miejscowe podrażnienie i gorzki posmak w ustach (9). Kwas kromoglikanowy zaliczany jest do leków przeciwalergicznych, których mechanizm działania polega na hamowaniu degranulacji mastocytów, czego następstwem jest blokowanie uwalniania histaminy. Kromon zapobiega powstawaniu reakcji alergicznej. Skutki niepożądane występują rzadko i ograniczają się raczej do kichania i uczucia pieczenia. Wadą stosowania preparatów z kwasem kromoglikanowym jest krótki okres półtrwania i co za tym idzie trzeba go stosować 4 razy dziennie. Pacjenci często nie są zadowoleni z efektów stosowanej kuracji i poszukują alternatywnych metod leczenia. Ektoina posiadająca właściwości stabilizujące i nawilżające błonę komórkową jak i zmniejszające stan zapalny stanowi ciekawe rozwiązanie przy kuracji alergicznego nieżytu nosa. Przeprowadzono dwa nieinwazyjne badania kliniczne. Obydwa badania wykazały, że alergiczny nieżyt nosa może być z pozytywnym skutkiem leczony za pomocą preparatów zawierających ektoinę. Wykazano, że zarówno preparaty z azelastyną jak i z badanym osmoprotektantem zmniejszyły nasilenie objawów alergicznego nieżytu nosa. Na podstawie omówionych badań wysnuto również wnioski, że zarówno krople do oczu jak i do nosa zawierające ektoinę mogą być bezpiecznie stosowane u pacjentów cierpiących na to schorzenie (8).

Oprócz zastosowania przy chorobach alergicznych łagodzi również zespół suchego oka w wyniku stabilizacji struktury lipidowej warstwy płynu łzowego. Mechanizm ten związany jest ze zwiększeniem odległości międzycząsteczkowej w filmie łzowym i wykluczaniu z niego składników niepolarnych. Krople do oczu z ektoiną oprócz działania przeciwalergicznego działają również nawilżająco i łagodząco na podrażnioną spojówkę oka. Może być podawana codziennie bez zmniejszenia skuteczności (10,11).

Ektoina może być również stosowana w czasie ostrego zapalenia gardła i krtani. Kuracja roztworem z opisywaną substancją spowodowała zmniejszenie obrzęku szyjnych węzłów chłonnych. Porównywano preparat z ektoiną w postaci sprayu do preparatu

zawierającego tylko sól fizjologiczną. Wykazano, że preparat z osmoprotektantem zdecydowanie lepiej radzi sobie ze stanem zapalnym i może stanowić ciekawą alternatywę w leczeniu ostrych stanów zapalnych gardła. Co równie istotne charakteryzuje go wysoki stopień bezpieczeństwa (10).

Równocześnie do badań nad postacią donosową zostały przeprowadzone badania w USA nad ektoiną podawaną w formie proszku do inhalacji. Po pozytywnych próbach u zwierząt przeprowadzono badania z udziałem ludzi cierpiących na lekką postać przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP). Chorzy przyjmowali 1,3% roztwór ektoiny rozpuszczonej w soli fizjologicznej lub samą sól fizjologiczną jako placebo. Badanie trwało 4 tygodnie. Pacjenci używali inhalatora siateczkowego. Wykazano, że ektoina:

- zmniejsza nasilenie kaszlu w skali jakości życia;
- obniża poziom IL-8 w płwocinie;
- obniża znacznie poziom tlenków azotu w płwocinie;
- zmniejsza zawartość procentową neutrofilii w płwocinie.

Na podstawie tego badania wywnioskowano, iż ektoina:

- podawana w nebulizacji obniża poziom markerów stanu zapalnego u chorych w podeszłym wieku z lekką postacią POChP;
- może wykazywać skuteczność w prewencji przyspieszonego starzenia się płuc w wyniku narażenia chorych na zanieczyszczone powietrze
- preparat jest dobrze tolerowany (7).

Ektoina obecnie dostępna jest na rynku w postaci preparatu do inhalacji. Powoduje rozrzedzenie wydzieliny w drogach oddechowych i przynosi ulgę w kaszlu.

Wiele badań z ektoiną przeprowadzono również w dziedzinie dermatologii. Osmoprotektant ten tworzy na powierzchni komórki warstwę, która chroni przed niekorzystnym działaniem czynników pochodzących ze środowiska zewnętrznego.

Ektoina posiada antyoksydacyjne właściwości. Chroni w ten sposób przed wczesnymi uszkodzeniami powierzchni skóry na poziomie molekularnym. Pochłania promieniowanie UV. Blokując promieniowanie UV wpływa w sposób bezpośredni na zapobieganie starzenia się skóry (12).

Ektoina znalazła również zastosowanie w leczeniu chorób skóry m.in. atopowego zapalenia. Zaaplikowana w postaci kremu:

- działa przeciwzapalnie,
- redukuje świąd i szorstkość skóry,
- zmniejsza zaczerwienienie,
- nawilża skórę i zmniejsza utratę wody,
- wspiera regenerację naskórka (14).

Ze względu na wysoki profil bezpieczeństwa kremy z ektoiną zalecane są nawet u dzieci od pierwszego miesiąca życia.

Silne działanie antyoksydacyjne sprawia, że wykorzystywana jest jako środek ochronny podczas radioterapii. Chroni wtedy skórę przed szkodliwym działaniem promieniowania.

Najwięcej badań i najszersze zastosowanie znalazła ektoina do tej pory w alergologii, dermatologii, okulistyce, laryngologii i kosmetologii.

Wielu naukowców poszukuje zastosowania dla ektoiny w innych jednostkach chorobowych. Bardzo obiecujące są badania w dziedzinie neurologii. Do potencjalnych zastosowań należy:

- ochrona komórek nerwowych przed powstawaniem toksycznych form białek z łańcuchami poliglutaminianu, które wywołują zmiany konformacyjne białka powodując tworzenie agregatów, a w konsekwencji tego śmierć komórek;
- potencjalna terapia choroby Alzheimera poprzez hamowanie agregacji i neurotoksyczności β -amyloidu. Zmniejsza jego toksyczność w stosunku do komórek neuroblastomy;

- zahamowanie agregacji i neurotoksyczności peptydu prion 106-206, który odpowiedzialny jest za chorobę Creutzfeldta-Jakoba; w przyszłości może stanowić element terapii.

W ciągu kilkunastu ostatnich lat zrobiono wiele badań i potwierdzono skuteczność działania ektoiny w wielu dziedzinach. Dzięki swoim przeciwzapalnym, nawilżającym i antyoksydacyjnym właściwościom znalazła grono zwolenników. Myślę, że jest jeszcze wiele zastosowań do odkrycia. Ektoina z pewnością będzie w centrum zainteresowań branży medycznej i kosmetycznej przez wiele lat.

Piśmiennictwo

1. <https://pl.wikipedia.org/wiki/Ektoina>. Pobrano 5.04.2020 r.
2. <http://kosmos.icm.edu.pl/PDF/2014/25.pdf>. Pobrano 5.04.2020 r.
3. <http://www.medycynawet.edu.pl/images/stories/pdf/pdf2019/062019/2019066162.pdf>. Pobrano 5.04.2020 r.
4. <https://medicus.lublin.pl/2014/06/post-1206/> Pobrano 5.04.2020 r.
5. <https://biotechnologia.pl/biotechnologia/nauka-z-pasja-ektoina-jest-warta-tyle-co-zloto-rozmowa-z-prof-dr-hab-zofia-stepniewska-i-dr-agnieszka-kuzniar,13392> Pobrano 5.04.2020 r.
6. Dotsch A, Severin J, Alt W et al. A mathematical model for growth and osmoregulation in halophilic bacteria. *Microbiology* 2008; 154: 2956-2969.
7. Emeryk A, Emeryk-Maksymiuk J, Sosnowski T. Ektoina w aerozolu w terapii chorób dróg oddechowych. *Klinika Pediatryczna* 2018; vol 26.
8. Werkhauser N, Bilstein A, Sonnemann U. Treatment of allergic rhinitis with ectoine containing nasal spray and eye drops in comparison with azelastine containing nasal spray and eye drops or with cromoglycic acid containing nasal spray. *J Allergy (Cairo)* 2014, 2014: 176597.
9. Horak F, Zieglmayer U.P. Azelastine nasal spray for the treatment of allergic and nonallergic rhinitis. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2009 Vol. 5, no. 6, 659-669.
10. Bownik A, Stępniewska Z. Ectoines as a promising protective agent in humans and animals. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 2016; 67: 260-265.
11. Mrukwa-Kominek E, Janiszewska-Salamon J, Luboń W. Znaczenie ektoiny w leczeniu alergii ocznej. *Ophthalmology J*. 2016; Vol. 1; Suppl:1; 1-3.
12. Załęska-Żyłka I, Pietrzycka A. Korzyści z zastosowania ektoiny w dermokosmetykach. *Kosmetologia estetyczna*. 2014; vol. 3; 4.
13. Marini A, Reinelt K, Krutmann J, Bilstein A. Ectoine-containing cream in the treatment of mild to moderate atopic dermatitis: a randomised, comparator-

controlled, intra-individual double-blind, multi-center trial. *Skin Pharmacol
Physiol.* 2014;27(2):57-65