

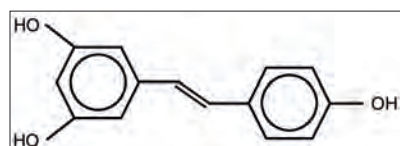
Resveratrol - sundhedsfremmende effekter, produktionsmuligheder og forventninger

Resveratrol eller "rødvinsmedicin", som det populært kaldes, er først blevet almindeligt kendt i Europa og Danmark i de seneste år. Her gives et kort overblik over de mulige sundhedsfremmende effekter, de metoder der anvendes til produktion og endelig præsenteres en ny fremstillingsmetode, der benytter mikrobiel fermentering

Af Sami Sassi¹, Ole Vang² og Jochen Förster¹,

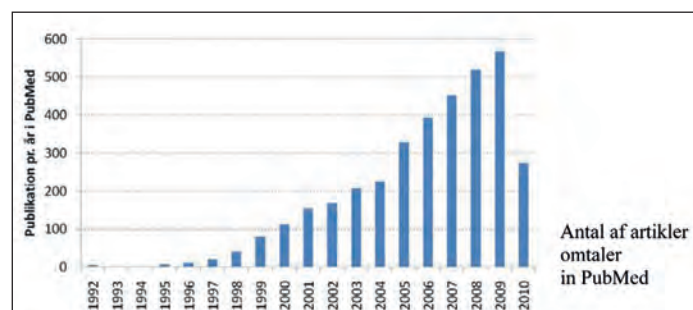
¹Fluxome A/S, ²Roskilde Universitet, Institut for Natur, Systemer og Modeller

Stoffet *trans*-resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) (figur 1) (herefter kaldet resveratrol) blev i 1940 første gang isoleret fra rødderne af *Veratrum grandiflorum* (engelsk: white hellebore, i familie med hvid foldblad) og senere i begyndelsen af 1960'erne



Figur 1. Resveratrol.

fundet i japansk pileurt (*Polygonum cuspidatum*, engelsk: Japanese knotweed). Ingen var dog rigtig interesseret i disse observationer, før resveratrol blev fundet i rødvins (1992) og koblet sammen med det franske paradoks. Det franske paradoks dækker over det fænomen, at franskmænd har en lavere dødelighedsrisiko pga. hjerte-kar-sygdomme end andre nationaliteter. Den videnskabelige verden fik for alvor øjnene op for mulige sundhedsfremmende effekter ved resveratrol efter en artikel bragt i tidsskriftet Science i efteråret 1997 [1], hvor Jang *et al.* viste, at resveratrol kunne reducere kemisk induceret kræft i musehud, og at dette i nogen grad kunne forklares med en hæmning af enzymet cyclooxygenase-1.



Figur 2. Som resveratrol-databasen.

Siden da er mængden af videnskabelige artikler vokset markant (figur 2).

Resveratrol er et stilbene phytoalexin, og stoffet er en del af planterens forsvarsmekanisme mod infektioner og stress. I planter

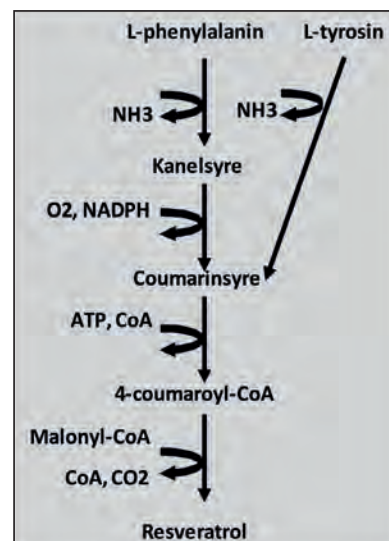
bliver resveratrol syntetiseret via polypropanoid-pathwayen ud fra de aromatiske aminosyrer tyrosin eller phenylalanin (figur 3).

Sundhedsfremmende effekter

Resveratrols potentielle sundhedsfremmende effekter er fordelt på fem hovedeffekter (faktaboks 1). Disse effekter mangler dog stadig at blive påvist eksperimentelt i mennesker, så vores viden baserer sig på dyremodeller og *in vitro*-eksperimenter. At resveratrol synes at påvirke så forskellige sygdomsudtryk kan virke overraskende, men de diverse effekt-mønstre skyldes måske, at resveratrol modulerer nogle få, men meget centrale cellulære processer.

Det er beskrevet, at resveratrol på cellulært niveau virker som en antioxidant, hæmmer inflammation, hæmmer celledeling reversibelt og inducerer apoptose (programmeret celledød). Antioxidation er beskrevet for en lang række polyfenoler og skyldes deres evne til at bryde den kædereaktion oxidation er. Antioxidanten bliver selv oxideret, men det dannede antioxidantradikal er stabilt nok til ikke at oxidere andre cellulære molekyler som f.eks. DNA, membraner eller proteiner. Antioxidation er afgørende i både kræft- og hjerte-kar-sygdommenes udvikling, da disse sygdomme fremskyndes af oxidation af relevante molekyler.

På samme måde er "low-grade" kronisk inflammation koblet til de store livsstilssygdomme, og det er vist, at resveratrol kan hæmme inflammation i *in vitro*-modeller og i forsøgsdyr. På cellulært niveau er hæmning af NF- κ B signalvejen sandsynlig-



Figur 3. Biosyntese af resveratrol.

Faktaboks 1

Resveratrols sundhedsfremmende effekter

De mulige sundhedsfremmende effekter af resveratrol er beskrevet som:

Hæmning af kemisk induceret kræft: Der er gennemført mere end 30 dyrestudier i mus og rotter, og mere end 70% af disse viser, at resveratrol reducerer risikoen for at udvikle kræft i forskellige organer. Det første af en række igangværende kliniske studier er afsluttet, men resultatet er endnu ikke offentliggjort.

Øget insulinfølsomhed: Flere studier i mus har påvist, at resveratrol har en positiv effekt på en række markører for fedme-induceret type 2 diabetes. Det er sandsynligt, at denne effekt er koblet til en øget mitochondrieaktivitet som også observeres i resveratrolbehandlede mus.

Øget kardiovaskulær funktion: Dyrestudier indikerer, at resveratrol også har en forebyggende effekt på hjerte-kar-sygdomme. Det er funderet på den observation, at resveratrol påvirker triglyceridniveauet i blodet, hæmmer atherosclerosis, hæmmer blodpladeaggregeringen og fremmer vasorelaxation.

Hæmmer neurodegeneration: I flere dyremodeller for Alzheimers og Parkinsons sygdomme er det fundet, at resveratrol kan forebygge neurodegeneration. Et andet eksempel er delvis forebyggelse af hjerneskade efter et iskæmisk slagtilfælde. Mekanismen er ikke klarlagt, men aktivering af enzymet Sirt1 og hæmning af NF-κB signalvejen spiller afgørende roller.

Livsforlængende effekt: Dette er en af de meget bemærkelsesværdige effekter af resveratrol. Effekten svarer til effekten af reduceret kalorieindtagelse og den livsforlængende effekt er observeret i gær, invertebrater, fisk og mus.

vis af stor betydning, men en række andre cellulære signalveje spiller givet også ind.

Resveratrols evne til at standse celledeling i en lang række celletyper er sammen med apoptose (programmeret celledød) afgørende for at forklare resveratrols kræftforebyggende effekt. Disse to effekter kan også kobles til NF-κB signalvejen, men andre signalveje spiller givetvis også med her.

Resveratrol på det globale marked

Resveratrol er fundet i en lang række planter og plantefamilier, i store mængder i rødderne af japansk pileurt, i skallen af vin-

druer, i *Vaccinium*-familien (blåbær, tranebær), *Morus*-familien (morbær), *Cassia*-familien (Sennes), jordnødder og *Rheum*-familien (rabarber). Hertil kommer, at resveratrol og derivater af resveratrol identificeres i flere og flere planter. Aggarwals forskningsgruppe viste i 2004, at resveratrol (og derivater) er blevet fundet i mange forskellige planter [2], og listen er i dag endnu længere.

Markedsføring af resveratrol har benyttet sig af forbrugernes associationer mellem druer og rødvin, men i virkeligheden er koncentrationen af resveratrol i druer, og dermed i rødvin meget begrænset (i gennemsnit 1.9 ± 1.7 mg resveratrol/L) [3]. Den største leverandør af naturligt resveratrol har været Kina, hvorfra man ekstraherer resveratrol fra japansk pileurt. I Kina vokser planten vildt, og denne form for ukontrolleret "landbrug" gør det svært at etablere sporbarhed til vækststedet. Ud over kvalitetsproblemer med råmaterialer er forsyningsmængderne svingende. En anden ulempe ved at udvinde resveratrol fra planten japansk pileurt er, at den indeholder emodin, der kan virke afførende.

Der findes også syntetisk fremstillet resveratrol på markedet, men det er endnu ikke slået igennem på markedet for kosttilskud. Forbrugerne er i dag mere bevidste om, hvorfra produkterne stammer, og hvad de indeholder. Generelt foretrækker forbrugere, som anvender sundhedsfremmende produkter, naturlige produkter frem for syntetiske. De forbrugere, der efter-



CP Kelco US, Inc., San Diego, produktionssted i Californien.

WWW
Besøg os på nettet

RADWAG

In Vitro as
Leverandør til de danske laboratorier

Malene Franck • mf@in-vitro.dk • 61 63 09 00 • www.in-vitro.dk

**Repræsentativ
Formaling og Sigtning**

SKANLAB

Retsch
Solutions in Milling & Sieving

NYHEDER

www.skanlab.com
rets@skanlab.com



Fluxome resveratrol produceres i dag vha. mikrobiel fermentering.

spørger resveratrol, anvender i stadig større omfang internettet til informationssøgning og til indkøb, og her kan de vælge mellem flere forskellige resveratrolprodukter.

Industriel fremstilling af resveratrol

Der er i dag et stærkt krav fra kosttilskud- og fødevaremarkedet om nye, sikre, effektive og naturlige ingredienser. En mulighed for at imødekomme disse krav er at producere fødevareingredienser vha. mikrobiel fermentering. Fermentering tillader en sikker og reproducerbar produktion af høj kvalitetsprodukter. Desuden er fermenteringsprocesser ofte mere miljøvenlige og tillader en mere kosteffektiv produktion end traditionelle produktionsmetoder. I fremtiden forventes det, at der produceres flere ingredienser vha. mikrobiel fermentering.

Fluxome (faktaboks 2) har specialiseret sig i at udvikle mikroorganismer - specielt bagegær - til at producere funktionelle ingredienser via mikrobiel fermentering. Den teknologi, der anvendes til at udvikle egnet bagegær til produktion, kaldes microbial engineering. Først benyttes matematiske modeller til simulering af produktion af en fødevareingrediens i bagegær,

derefter konstrueres gærstammerne, de fermenteres og endelig analyseres den nye gærstamme (figur 4). Styrken ved teknologien er anvendelse af kombinationen af matematiske modeller med egentligt laboratoriearbejde. I praksis vil det sige, at ud over optimering af den biosyntetiske pathway tillader de matematiske modeller at identificere potentielt gode og ikke åbenlyse udviklingsstrategier uden for den biosyntetiske pathway. Dermed udvikles de produktive mikroorganismer og konkurrencedygtige produktionsprocesser løbende.

Udviklingen af Fluxomes første produkt resveratrol startede med konstruktion af en egnet gærstamme. De første strategier involverede optimering af den biosyntetiske pathway og ekspression af pathwayen i gær. Der blev undersøgt mange forskellige enzymer, codon-valget blev optimeret, og nøgleenzymer gennemgik flere runder af protein engineering for at øge deres effektivitet. Det blev til dels opnået ved at udvikle nye molekylærbiologiske metoder og værktøjer. Derefter blev flere microbial engineering-strategier afprøvet for at øge produktionen af resveratrol (figur 4), herunder forsyningen af nødvendige substrater såsom de aromatiske aminosyrer, redox eller malonyl-CoA samt energi. Optimering af fermenteringsprocessen bidrog væsentligt til en øget resveratrolproduktion. Fra den første etablering af resveratrolsyntese i gær til den endelige udvikling af den første produktionstamme er titeren af resveratrol øget mere end en million gange.

De opnåede resultater viste sig at være skalérbare, dvs. at de resultater der blev opnået i laboratorieskala i rystekolber og 2 L fermenteringer, også kunne opnås i industriel skala på flere 1000 L.

Fluxome resveratrol produceres i dag vha. mikrobiel fermentering i USA, hvorfra det også sælges. Fluxome resveratrol er tilgængelig som et 98% rent produkt. Den industrielle produk-



Figur 4. Microbial engineering.

tion foregår på FDA-godkendte produktionssteder under Food GMP, og produktet er kosher. Desuden er der ved at blive opnået GRAS (Generally Regarded As Safe)-status i USA.

Fremtidsudsigter

Som med så meget andet, er USA længere fremme, når det kommer til udbredelse af resveratrol. Men resveratrol er godt på vej til det europæiske marked. Så snart Fluxomes resveratrol-produkt har fået Novel Food-godkendelse i Europa, kan stoffet sælges som kosttilskud eller fødevaringrediens – en proces der kan tage ca. 3 år.

Kommercielt blev der for alvor sat fokus på resveratrol med GlaxoSmithKlines opkøb af Sirtris Pharmaceuticals i 2008 for 720 mio. USD. Sirtris er et biofarmaceutisk firma med fokus på udvikling af medicin til aldersrelaterede sygdomme som type 2 diabetes. Firmaet er et af de førende i verden inden for udvikling af resveratrolbaseret medicin. Opkøbet blev omtalt

Faktaboks 2

Om Fluxome A/S

Fluxome A/S blev stiftet i 2002 og er en spin off-virksomhed fra det daværende Center for Proces Bioteknologi på DTU. I begyndelsen udførte Fluxome kontraktforskning for en række virksomheder inden for metabolic engineering af mikroorganismer til fremstilling af kemikalier og fødevaringredienser. Fra 2004 undersøgte Fluxome muligheden for at udvikle egne produkter og firmaet identificerede polyumættede fedtsyrer og resveratrol som de første kandidater. De første patentansøgninger blev indleveret i 2004 og 2005. Siden 2005 har Fluxome tiltrukket 20 mio. euro i kapital fra investorer for at fokusere udelukkende på udvikling, fremstilling og salg af funktionelle ingredienser til kosttilskud- og fødevarerindustrien. I 2009 introducerede Fluxome sit første produkt på markedet, resveratrol. Fluxomes produktportefølje omfatter i dag resveratrol og 1,3-1,6 beta-glucan, og det næste produkt under forberedelse er omega-3 fedtsyren, eicosapentaensyre eller kort EPA.

i flere store amerikanske aviser, som sammen med tv-kanaler rapporterede om resveratrol og dets helseeffekter. Størstedelen af historierne havde fokus på resveratrols aldringsforsinkende effekt. Dette er et meget attraktivt budskab til den aldrende og meget købekraftige del af befolkningen, som ønsker at beholde et godt helbred og vitalitet længst muligt.

Det store mediefokus især i USA har utvivlsomt øget kendskabet til resveratrol. I nogle tilfælde kan det dog være svært, selv for fagpersoner, at se det fulde billede. For den mekanisme, der forklarer den aldringsforsinkende eller livsforlængende effekt af resveratrol, er stadig under diskussion. Tidligere studier forklarede mekanismen vha. en direkte aktivering af SIRT1 deacetylase-aktiviteten, men nyere studier peger på, at mekanismen må være en anden. Efter mere end 10 års intensiv global forskning i resveratrol er der derfor behov for at gøre status over den samlede viden inden for området. Derfor er Dansk Biokemisk Forening sammen med en række relevante samarbejdspartnere i gang med at arrangere den første internationale konference om resveratrol og dets sundhedsfremmende effekter. Resveratrol2010-konferencen afholdes i Danmark til septem-

ber. Den samler de ledende profiler inden for resveratrolforskning for at diskutere og planlægge det kommende års samlede arbejde.

Tak

Stor tak til Iben Plate for kritisk gennemlæsning og gode kommentarer.

E-mail-adresse

Jochen Förster: jf@fluxome.com

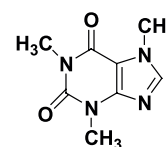
Referencer

1. M.Jang, L.Cai, G.O.Udeani, K.V.Slowing, C.F.Thomas, C.W.Beecher, H.H.Fong, N.R.Farnsworth, A.D.Kinghorn, R.G.Mehta, R.C.Moon, J.M.Pezzuto. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes, *Science* 275 (1997) 218-220.
2. B.B.Aggarwal, A.Bhardwaj, R.S.Aggarwal, N.P.Seeram, S.Shishodia, Y.Takada. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies, *Anticancer Res.* 24 (2004) 2783-2840.
3. U.Stervbo, O.Vang, C.Bonnesen. A review of the content of the putative chemopreventive phytoalexin resveratrol in red wine, *Food Chem.* 101 (2007) 449-457.

Nyt om...

... Kaffe og leversygdom

Leverfibrose eller ardannelse er et stadium i sygelige omdannelser i leveren. Blandt 177 hospitalspatienter formindsker 212 mg koffein pr. dag omfanget af leverskader bestemt ved leverbiopsi sammenlignet med patienter med et mindre indtag.



Koffein

For hepatitis C-patienter beregnes et fald på 14% i risiko for fremskreden fibrose for hver 67 mg ekstra koffein dagligt. Den beskyttende effekt indtræder først efter mere end to kopper kaffe. Virkningen af over 308 mg koffein dagligt er signifikant efter korrektion for alder, køn, race, leversygdom, body mass index (BMI) og alkoholindtag.

Ren koffein og kaffe giver samme positive effekt, men grøn eller sort te, koffeinerede drikke og en række koffeinholdige fødevarer er virkningsløse.

Carsten Christophersen

Increased caffeine consumption is associated with reduced hepatic fibrosis
A. A. Modi, J. J. Feld, Y. Park, D. E. Kleiner, J. E. Everhart, T. J. Liang og J. H. Hoofnagle *Hepatology* Januar 2010
<http://www3.interscience.wiley.com/journal/122593077/abstract>

Pipettecenteret

Kalibrering og service af alle fabrikater pipetter.

Vi kalibrerer både ved indsendelse eller på kundens adresse.

Salg af pipetter og laboratorie varer.

Nu også salg og service af vægte.



Pipettecenteret
Skovkanten 41 · 4700 Næstved
Tlf. 55 73 62 05 · Mobil 30 33 32 49
Email. nielslindgaard@stofanet.dk
www.pipettecenteret.dk

