

Kinetin: et potentielt anti-aldningsmolekyle

N⁶-furfuryladenin også kaldet kinetin er en af de cytokininer, der har anti-aldningseffekt på planter, menneskelige hudceller og bananfluer. Det tyder på, at kinetin er en vægtig naturlig antioxidant med mangfoldige virkninger i beskyttelse af DNA'et og proteiner

Af Suresh I.S. Rattan Ph.D., Dr.Scient., rattan@imsb.au.dk og Gunhild E. Siboska, ges@imsb.au.dk, Institut for Molekylær og Strukturel Biologi, Aarhus Universitet

Historisk set er der fremstillet en mangfoldighed af produkter, der er blevet solgt og brugt til behandling og/eller beskyttelse af aldersrelaterede forandringer i mennesker. Disse produkter stammede tidligere fra plante- og animalske produktsammensætninger. I vor tid bruges der serum-vækstfaktorer, urte-ekstrakter og humane foster- og cellulære ekstrakter. Generelt blev der kun foretaget meget lidt eller ingen systematisk forskning for at understøtte den anførte virkning af disse produkter. Gennem de sidste tyve år har situationen dog forandret sig meget, og mange nye molekyler er blevet videnskabeligt testet.

Kinetins anti-aldningseffekter på humane hudceller blev første gang beskrevet af os [1]. I det følgende gives en kort beskrivelse og diskussion af den kemiske struktur, de biologiske effekter, måden det virker på og kinetins mulige anvendelsesområder inden for sundhedssektoren og i anti-aldningsterapien.

Kemiske egenskaber

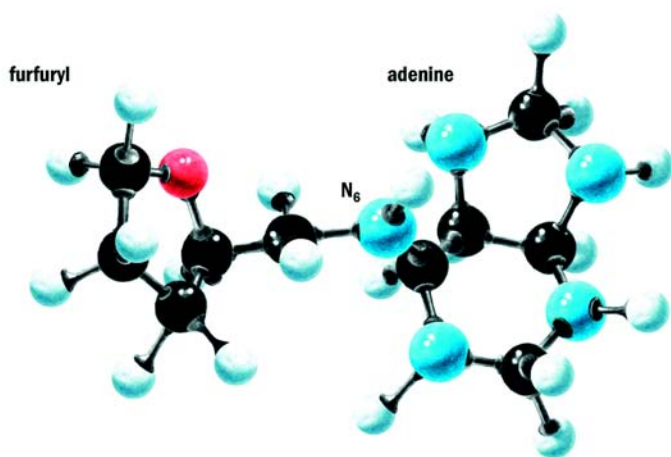
Kinetin (N⁶-furfuryladenin) blev isoleret første gang i 1955 fra autoklaveret sildesæd DNA [2,3]. Det er et derivat af adenin, som er en af nukleinsyrernes purinbaser (figur 1), og det hører til cytokiningruppen af plantevæksthormoner. Kinetin er et amfotert molekyle, som er opløseligt i stærke syrer og baser og svagt opløseligt i alkohol, butanol, acetone og ether, men praktisk umuligt at opløse i destilleret vand. Krystaller af kinetin til røntgenkrystallografi er fremstillet ved langsom nedkøling af en varm alkoholopløsning. Identifikation af kinetin i naturlige produkter blev mulig-

gjort ved opdagelsen af dets elektrokemiske egenskaber. Vha. studier af massespektrometrianalyse af DNA-komponenter [4] fik vi det afgørende bevis for tilstedeværelsen af N⁶-furfuryladenin i naturlige produkter. Det blev rapporteret, at kinetin er naturligt forekommende i forskellige planter, humane celleekstrakter og i DNA [4-6]. Kinetins biosyntetiske reaktion involverer fremstillingen af furfural gennem hydroxylradikal-oxidation af deoxyribose i DNA [7,8].

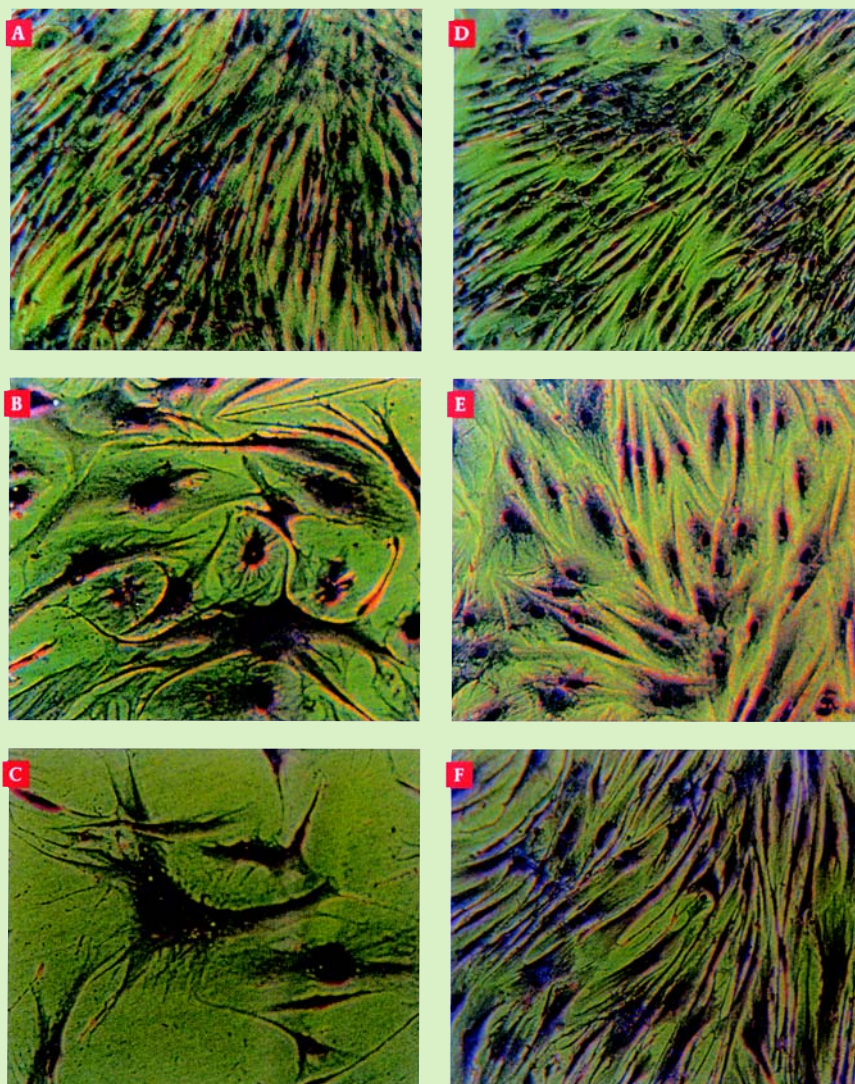
Biologiske egenskaber

De fleste data om kinetins biologiske egenskaber stammer fra studier af effekten på plantesystemerne. Kinetin stimulerer tRNA-syntesen, celle-cyklus forløb og den katalytiske aktivitet af den cyklin-afhængige kinase (cdc2) i planteceller. Små mængder kinetin stimulerer calciumoptaget gennem plasmamembranen via calciumkanalen i planteceller. Kinetin beskytter planteceller imod stress ved at undertrykke celledød fra vira og toksiske kemikalier såsom kviksølv(II)chlorid. Kinetin er velkendt for sin anti-aldningseffekt på planter. Den beskytter imod gulfarvning og ældning af bladene og nedsætter overmodningen og nedbrydningen af frugter (for nærmere detaljer, se [9]).

Vi har rapporteret, at kinetin har en stærk anti-aldningseffekt på humane hudceller og bananfluer. Vi har vist, at 40-80 mikromolær (ca. 10-20 ppm) kinetin udsætter mange cellulære og biokemiske kendetegn, som indtræder i forbindelse med cellulær aldring på langtidskulturer af humane celler (fibroblaster) fra underhuden. Disse celler dyrket uafbrudt i



Figur 1. Struktur af N⁶-furfuryladenin, kinetin.



Figur 2. Kinetin bremser aldringen i menneskelige hudceller, der er blevet dyrket i laboratoriet. A-C: normale unge, midaldrende og gamle celler der ikke er blevet behandlet med kinetin. D-F: tilsvarende celler behandlet med kinetin.

dyrkningsmedium tilsat kinetin gennemgik ikke alvorligere morfologiske forandringer såsom celleforøgelse, vakuole-dannelse og uregelmæssigt udseende (figur 2). Celler behandlet med kinetin ophober ikke nedbrudt materiale knyttet til alders-pigmentet lipofuscin og oxiderede makromolekyler. Væksten af humane celler i kinetinrigt medium forhindrede også opløsningen af cytoskeleton og fremkomsten af celler med flere kerner under aldring *in vitro*. Selvom kinetin til en vis grad kunne vende nogle af de aldersrelaterede forandringer i ældede humane hudceller *in vitro*, var effekten dog mest tydelig som en beskyttende forbindelse i langtidsbehandlinger [1]. Det vigtigste er, at behandling af humane celler med de ovennævnte doser af kinetin hverken var årsag til for tidlig celledød (et udtryk for toksicitet) eller introducerede ekstra celledeling, hvilket er et potentielt udtryk for kræft. I den retning adskiller kinetin sig væsentligt fra andre såkaldte anti-aldningsmolekyler, som enten forårsager en større hyppighed af celledød (f.eks. retinol) eller fremmer hastig celledeling, f.eks. serum-vækstfaktorer og dipeptidcarnosin [10].

For at finde frem til kinetins effekt på aldringen og levetiden af organismer er der udført studier på bananfluer. Det er rapporteret, at 25-50 ppm kinetin tilsat bananfluernes føde nedsatte deres udvikling og aldring og forøgede deres gennemsnitlige og maximale levetid med henholdsvis 65% og 25%. Denne levetidsforøgelse blev fulgt af en 55-60% forøgelse af

aktiviteten af et antioxidant enzym, catalase, som nedbryder hydrogenperoxid i celler [11,12].

For den kosmetiske anvendelse af kinetin udføres dobbelt blindforsøg af 24 - 48 ugers varighed med en kinetinholdig lotion (0.01-0.1%) på mennesker. I dette studie, hvor 64 mennesker var involveret, har en to gange daglig påføring af kinetin på ansigtshuden vist en konsistent overordnet klinisk forbedring af flere lysrelaterede ældningsmarkører. Disse markører består af fine rynker, grove rynker, skjoldet hyperpigmentering, overfølsom hud og total vandtab. Den positive effekt af kinetin, der var registreret på mere end 95% af testpersonerne, var uden nogen associeret negativ effekt såsom forbrændthed, svien, afskalning og tørhed (ikke publicerede data er tilgængelige hos Senetek PLC, <http://www.senetekplc.com>).

Mekanismer og applikationer

Skønt man endnu ikke er klar over den eksakte mekanisme af kinetins virkemåde, indikerer forskellige tegn tydeligt, at kinetin er involveret i signaltransduktionen og også virker som en naturlig antioxidant [9]. Ligesom et signal-molekyle kan kinetin stimulere andre forsvarsmekanismer, såsom DNA-reparation og »protein turnover« via proteosomnedbrydningen og derved agere som et hormetisk molekyle. For at analysere den antioxidative beskaffenhed af kinetin som en fri radikal skavenger kunne man overveje

to muligheder: (1) Oxygenradikaler kan trække hydrogen direkte fra α -kultstofatomet fra aminbåndet fra N⁶-furfuryl-adenin; eller (2) de kan gennemgå en hurtigere dismutationsreaktion i vandige opløsninger, når kinetin danner kompleks med kobber. En direkte effekt af kinetin på superoxid dismutase aktiviteten er blevet observeret i planter. Vore studier har vist, at kinetin beskytter DNA fra hydrogenperoxid-induceret dannelse af mutagen 8-oxodeoxyguanin i Fentonreaktionen *in vitro* [13]. Senest har vi observeret, at kinetin beskytter mod oxidativ og glyoxidativ proteinskade, som udvikles *in vitro* af sukker og jern-/ascorbatsystemet [14].

Kinetin er en effektiv naturlig antioxidant med mangfoldige effekter. Det er dog stadig nødvendigt med en gennemgående forskning af anvendelsen i forbindelse med dets brug til sundhedsbehandling og biomedicin. Den effekt, som kinetinen yder på beskyttelse og behandlingen af de tilstande, der opstår som følge af DNA-skade (f.eks. kræft), på proteiner og andre makromolekyler - som resulterer i ophobningen af abnormale proteiner og lipider i forskellige organer, væv og celler (f.eks. grå stær, Alzheimer's og andre sygdomme) - må nøjere undersøges. Kinetinens betydning som ernærings-tilskud til stimulering af vedligeholdelsen og reparationssystemet i kroppen, og som et generelt forsvarsmolekyle og komponent af den homeodynamiske reaktion, må undersøges meget nøjere.

Referencer

1. Rattan, S.I.S. and Clark, B.F.C. (1994): Kinetin delays the onset of ageing characteristics in human fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 201, 665-672.
2. Miller, C.O., Skoog, F., Von Saltza, M.H. and Strong, F.M. (1955): Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid. *J. Amer. Chem. Soc.* 77, 1392.
3. Miller, C.O., Skoog, F., Okumura, F.S., Von Saltza, M.H. and Strong, F.M. (1956): Isolation, structure and synthesis of kinetin, a substance promoting cell division. *J. Amer. Chem. Soc.* 78, 1375-1380.
4. Barciszewski, J., Siboska, G.E., Pedersen, B.O., Clark, B.F.C. and Rattan, S.I.S. (1996): Evidence for the presence of kinetin in DNA and cell extracts. *FEBS Lett.* 393, 197-200.
5. Raman, N. and Elumalai, S. (1996): Presence of cytokinin in the root nodules of *Casuarina equisetifolia*. *Ind. J. Exp. Biol.* 34, 577-579.
6. Ratti, N. and Janardhanan, K.K. (1996): Effect on growth and cytokinin contents of palmrosa (*Cymbopogon martinii* var. motia) by *Glomus inoculation*. *Ind. J. Exp. Biol.* 34, 1126-1128.
7. Barciszewski, J., Siboska, G.E., Pedersen, B.O., Clark, B.F.C. and Rattan, S.I.S. (1997): A mechanism for the *in vivo* formation of N⁶-furfuryladenine, kinetin, as a secondary oxidative damage product in DNA. *FEBS Lett.* 414, 457-460.
8. Barciszewski, J., Siboska, G.E., Pedersen, B.O., Clark, B.F.C. and Rattan, S.I.S. (1997): Furfural, a precursor of the cytokinin hormone kinetin, and base propenals are formed by hydroxyl radical damage of DNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 238, 317-319.
9. Barciszewski, J., Rattan, S.I.S., Siboska, G. and Clark, B.F.C. (1999): Kinetin - 45 years on. *Plant Sci.* 148, 37-45.
10. McFarland, G.A. and Holliday, R. (1994): Retardation of the senescence of cultured human diploid fibroblasts by carnosine. *Exp. Cell Res.* 212, 167-175.
11. Sharma, S.P., Kaur, P. and Rattan, S.I.S. (1995): Plant growth hormone kinetin delays ageing, prolongs the lifespan and slows down development of the fruitfly *Zaprionus parvittiger*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 216, 1067-1071.
12. Sharma, S.P., Kaur, J. and Rattan, S.I.S. (1997): Increased longevity of kinetin-fed *Zaprionus* fruitflies is accompanied by their reduced fecundity and enhanced catalase activity. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 41, 869-875.
13. Olsen, A., Siboska, G.E., Clark, B.F.C. and Rattan, S.I.S. (1999): N⁶-furfuryladenine, kinetin, protects against Fenton reaction-mediated oxidative damage to DNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 265, 499-502.
14. Verbeke, P., Siboska, G.E., Clark, B.F.C. and Rattan, S.I.S. (2000): Kinetin inhibits protein oxidation and glyoxidation *in vitro*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 276, 1265-1270.

Nyt om ionkonduktivitet

Peter G. Bruce og kolleger ved University of St-Andrews i Skotland har fremstillet krystallinsk poly(ethylenoxid) med lithiumsaltene LiAsF₆ og LiSbF₆.

Disse stoffer har en betydelig elektrisk konduktivitet. Polymerens kæder danner rør, hvori lithiumionerne kan bevæge sig. De komplekse anioner befinder sig udenfor rørene uden kontakt med kationerne.

Bruce og hans hold håber på, at deres opfindelse af opløsningsmiddelfrie polymerelektrolytter vil kunne bruges ved fremstilling af lithiumpolymerbatterier.

Bos

FREEMANTLE, M. 2001: Ion transport in polymer complexes. *Chemical & Engineering News*. 6. august: 9.

Nyt om calcit

Mineralet calcit er calciumcarbonat (CaCO₃). En gruppe forskere ved Lawrence Livermore National Laboratory har studeret calcitkrystallernes form, når mineralet udfældes fra vandige opløsninger. Forskerne har påvist, at krystallernes form ændres, hvis væsken er tilsat chirale aminosyrer som f.eks. D- eller L-asparginsyre (aminobutandisyre).

Bos

RAWLS, R. 2001: Chiral Amino Acids Alter Mineral Structure. *Chemical & Engineering News*. 18. juni: 11.



Specialister i

- Automatiseret Fastfaseoprensning Gilson ASPEC XL, ASPEC XLi, ASPEC XL4.
- Automatisering af væskehåndtering.
- HPLC, IC, SFC chromatografi.
- ERWEKA Dissolution systemer.
- Avancerede systemer til tabletkontrol.
- Salg og kalibrering af Gilson pipetter.



Biolab A/S · Sindalsvej 29 · DK-8240 Risskov
Telefon 8621 2866 · Telefax 8621 2301
E-mail: biolab@biolab.dk