

MAŁGORZATA SIERADZKA, JOANNA KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, PAWEŁ NOWAK

Katedra Biochemii Ogólnej  
Uniwersytet Łódzki

## NIE TYLKO AROMAT – WIELOKIERUNKOWA AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA KWASU WANILINOWEGO\*

NOT ONLY A FLAVOUR – THE PLEIOTROPIC BIOACTIVITY OF VANILLIC ACID

### Abstrakt

Kwas wanilinowy to naturalnie występująca pochodna kwasu benzoowego, szeroko rozpowszechniona w świecie roślin. Do niedawna jako jego główną aktywność biologiczną wymieniano w literaturze właściwości przeciwutleniające. W ostatnim czasie pojawiają się jednak coraz liczniejsze doniesienia wskazujące na znacznie szerszy zakres działania biologicznego tego związku, w tym m.in. jego działanie przeciwzapalne, antybakteryjne, przeciwnowotworowe oraz właściwości neuro- i nefroprotektoryjne. Zarówno wyniki badań *in vitro*, jak i *in vivo* sugerują, że kwas wanilinowy może być jednym z ważnych składników biologicznie czynnych obecnych w diecie człowieka. Prezentowana praca jest oparta na przeglądzie dostępnego piśmiennictwa (ze szczególnym uwzględnieniem prac z ostatnich 10 lat) dotyczącego szerokiego zakresu aktywności biologicznej kwasu wanilinowego, jak również perspektyw zastosowania tego związku w celach farmakologicznych.

**Słowa kluczowe:** kwas wanilinowy, kwas benzoowy, aktywność biologiczna

### Wstęp

Kwasy fenolowe, jako bioaktywne składniki diety, wzbudzają zainteresowanie od wielu lat. Intensywne badania dotyczące właściwości biologicznych różnych grup naturalnych polifenoli, w tym fenolokwasów, prowadzone w latach dziewięćdziesiątych XX

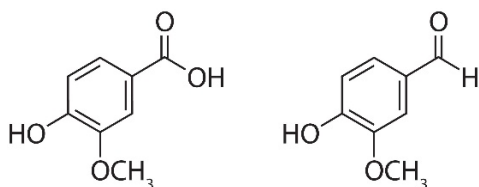
---

\*Praca sfinansowana ze środków statutowych Katedry Biochemii Ogólnej Uniwersytetu Łódzkiego (nr 506/1136) i „Dotacji celowej dla młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich w 2017 r.” (kod projektu: B1711000001500.02).

wieku, wykazały znaczący potencjał prozdrowotny tych substancji, wynikający m.in. z ich właściwości przeciwutleniających (np. Bourne i Rice-Evans, 1997; Paganga i in., 1999; Rice-Evans, 2001; Rice-Evans i Miller, 1996; Rice-Evans i in., 1996, 2000). Fenolokwasy stanowią ważny biologicznie czynny składnik żywności (np. Budryn i Nebesny, 2006; Gawlik-Dziki, 2004; Jeszka i in. 2010), w odróżnieniu jednak od kwasów hydroksycynamonowych aktywność pochodnych kwasu benzoowego (m.in. kwasu wanilinowego) jest znacznie słabiej opisana. Ponadto w polskojęzycznej literaturze brakuje opracowań podsumowujących obecny stan wiedzy na temat właściwości biologicznych kwasu wanilinowego. Celem prezentowanej pracy jest przegląd aktualnego piśmiennictwa dotyczącego kwasu wanilinowego w aspekcie jego aktywności biologicznej i potencjalnych właściwości farmakologicznych.

## Charakterystyka i występowanie kwasu wanilinowego

Kwas wanilinowy (kwas 4-hydroksy-3-metoksybenzoowy, rys. 1) należy do naturalnych pochodnych kwasu benzoowego. Występuje przede wszystkim w nasionach wanilii, ale jego obecność zidentyfikowano także w wielu innych surowcach roślinnych (m.in. w borówkach, burakach, cebuli, czarnej porzeczce, oliwie, orzechach, truskawkach, ziemniakach oraz zbożach) (Shahidi i Ambigaipalan, 2015). Zawartość kwasu wanilinowego w ziarniakach jęczmienia może wynosić od 56,6 do 65,6 mg/kg (Makarska i Michalak, 2005). W dostępnej na rynku kaszy gryczanej prażonej pochodzącej od różnych producentów stwierdzono od 46 do 92 mg kwasu wanilinowego w 1 kg produktu, a w nieprażonej zawartość tego fenolokwasu wynosiła 120 mg/kg produktu (Majkowska i in., 2015). W różnych odmianach truskawek stwierdzono natomiast od 118 do 161 mg kwasu wanilinowego w 1 kg suchej masy (Mahmood i in., 2012).



Rys. 1. Wzór strukturalny kwasu wanilinowego i waniliny

Kwas wanilinowy jest syntetyzowany w roślinach w drodze przemian kwasu octowego. Jest odpowiedzialny za kwaśny i gorzki smak niektórych produktów spożywczych pochodzenia roślinnego, może im także nadawać właściwości ściągające (Gawlik-Dziki, 2004). Jako pochodna waniliny posiada charakterystyczny zapach wanilii, stąd też jest używany jako związek zapachowy w przemyśle spożywczym. W procesach biotechnologicznych jest związkiem pośrednim w wytwarzaniu waniliny z kwasu ferulowego na skalę przemysłową.

## Główne kierunki działania biologicznego kwasu wanilinowego

### Aktywność antyoksydacyjna

Aktywność przeciwutleniająca fenolokwasów była wielokrotnie opisywana w artykułach naukowych, a obejmuje głównie zmiatanie wolnych rodników oraz nierodnikowych reaktywnych form tlenu, jak również zdolność chelatowania jonów metali przejściowych, katalizujących reakcje utleniania (Velika i Kron, 2012; Zieliński i in., 2012). Na ogół przyjmuje się, że pochodne kwasu cynamonowego są bardziej efektywnymi przeciwutleniaczami niż pochodne kwasu benzoowego. Różnorodność stosowanych metod oraz trudności w standaryzacji warunków badań aktywności antyoksydacyjnej, ocenianej w różnych układach doświadczalnych, utrudniają jednoznaczną ocenę efektywności działania związków z obu grup fenolokwasów. Na przykład w doświadczeniach z zastosowaniem kationorodnika ABTS<sup>•+</sup> (ang. *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid*, kwas 2'2'-azynobis-3-etylobenzotiazolin-6-sulfonowy) uzyskano następujący szereg charakteryzujący aktywność zmiatającą fenolokwasów: kwas wanilinowy > kwas synapowy > kwas protokatechowy > kwas syryngowy > kwas kawowy > kwas ferulowy. Stosując rodnik DPPH<sup>•</sup> (ang. *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*, 2,2-difenyl-1-pikrylohydrazyl), uzyskano nieco inną kolejność efektywności zmiatania fenolokwasów: kwas wanilinowy > kwas syryngowy = kwas synapowy = kwas protokatechowy = kwas ferulowy > kwas kumarowy > kwas kawowy. Z kolei ocena zdolności hamowania utleniania kwasu linolowego wykazała, że badane fenolokwasy działają antyoksydacyjnie w następującym porządku malejącym: kwas kawowy > kwas synapowy = kwas syryngowy > kwas protokatechowy = kwas wanilinowy > kwas weratrowy > kwas p-kumarowy (Szwajgier i in., 2005). Można znaleźć również doniesienia, że kwas wanilinowy w stężeniu 10 μM charakteryzował się znikomą zdolnością redukcji rodnika ABTS<sup>•+</sup>, a w stężeniu 15 μM nie wykazywał istotnej zdolności redukcji rodnika DPPH<sup>•</sup>. Jednocześnie, w pomiarach zmiatania rodnika hydroksylowego, dla 25 μM kwasu wanilinowego odnotowano efektywność działania przeciwrodnikowego na poziomie 89% (Mathew i in., 2015). Niezależnie jednak od różnic w kwestiach metodycznych, w dostępnej literaturze pojawia się coraz więcej doniesień wskazujących na bardzo dużą aktywność biologiczną pochodnych kwasu benzoowego. Dane te dotyczą m.in. ochronnej roli kwasów benzoowych w stresie oksydacyjnym, towarzyszącym patofizjologii wielu schorzeń: miażdżycy naczyń, nadciśnieniu tętniczemu, cukrzycy, nowotworom oraz stanom zapalnym (Łuszczewski i in., 2007).

W porównaniu z innymi fenolokwasami właściwości przeciwutleniające kwasu wanilinowego poznano znacznie słabiej. Większość dostępnych informacji pochodzi z oznaczeń *in vitro*, głównie w układach nieorganicznych, tj. z pomiarów efektywności zmiatania wolnych rodników (najczęściej DPPH<sup>•</sup> oraz ABTS<sup>•+</sup>), zdolności redukującej oraz chelatowania jonów metali. Dostępne są też wyniki doświadczeń wykonanych z zastosowaniem biologicznych modeli doświadczalnych, w tym badań *in vivo*. Oceniano zarówno właściwości kwasu wanilinowego otrzymywanego chemicznie, jak i związku naturalnego – izolowanego z roślin, a także aktywność przeciwutleniającą ekstraktów roślinnych bogatych w ten fenolokwas. W badaniach *in vitro* kwas wanilinowy (2 mg/ml) przeciwdziałał utlenianiu β-karotenu (odnotowano zahamowanie utleniania tego związku na poziomie 95,81%), a w teście redukcji rodnika DPPH<sup>•</sup> kwas ten (0,1–

0,5 mg/ml) charakteryzował się zdolnością zmiatania na poziomie 58–87% (Sevgi i in., 2015). Stwierdzono również zdolność tego fenolokwasu (15–60  $\mu\text{M}$ ) do zmiatania rodnika ponadtlenkowego oraz hydroksylogowego (Prince i in., 2011). Doświadczenia na komórkach linii BNLCL2 poddanych działaniu  $\text{H}_2\text{O}_2$  o stężeniu 1 mM wykazały, że kwas wanilinowy (20  $\mu\text{g/ml}$ ) wyraźnie redukuje stres oksydacyjny generowany w tych komórkach w odpowiedzi na utleniacz (Chou i in., 2010). Badania porównawcze aktywności kwasu wanilinowego oraz waniliny izolowanych z lebiodki pospolitej (*Origanum vulgare*) wskazały na dużą zdolność kwasu do zmiatania rodników DPPH $\cdot$  ( $\text{EC}_{50}$  = 3,6  $\mu\text{g/ml}$ ) oraz ABTS $^{+\cdot}$  ( $\text{EC}_{50}$  = 7,3  $\mu\text{g/ml}$ ), przewyższającą efektywność przeciwrodnikowego działania waniliny, której  $\text{EC}_{50}$  w teście DPPH $\cdot$  oszacowano na > 100  $\mu\text{g/ml}$ , a w metodzie z zastosowaniem ABTS $^{+\cdot}$  – na 35,1  $\mu\text{g/ml}$ . Kwas wanilinowy izolowany z frakcji n-butanolowej i octano-acetylowej ekstraktu ze skórki migdałów (w stężeniu 2–100  $\mu\text{M}$ ) zmiatał rodnik DPPH $\cdot$  z efektywnością 50–70% (Sang i in., 2002). Estry kwasu wanilinowego: metylowy, etylowy i butylowy badane w stężeniu 20  $\mu\text{M}$  wykazywały silniejsze właściwości zmiatania rodnika ABTS $^{+\cdot}$  w porównaniu z Troloxem $^{\text{®}}$ , ale miały słabsze niż Trolox $^{\text{®}}$  właściwości zmiatania rodnika DPPH $\cdot$ . W odniesieniu do Troloxu $^{\text{®}}$  wymienione estry (użyte w stężeniu 3  $\mu\text{M}$ ) charakteryzowały się silniejszymi zdolnościami pochłaniania rodników tlenowych (ang. *oxygen radical absorbance capacity*, ORAC) oraz hamowania hemolizy spowodowanej stresem oksydacyjnym (stężenie 25  $\mu\text{M}$ ) (Tai i in., 2012).

Wyniki opisywanych powyżej badań są bardzo obiecujące i sugerują, że kwas wanilinowy ma znaczący potencjał antyoksydacyjny. Podobnie jednak jak w przypadku innych związków polifenolowych, w tym pozostałych fenolokwasów, znaczące różnice w warunkach doświadczeń (nawet w obrębie tych samych metod) utrudniają wykonanie analiz porównawczych i jednoznaczne określenie efektywności działania tego związku na tle innych naturalnych polifenoli roślinnych lub związków referencyjnych. Na przykład Ding (2011) opisuje, iż stosowano w badaniach 500-mikromolowy roztwór DPPH $\cdot$ , który w mieszaninie ulegał rozcieńczeniu do 400  $\mu\text{M}$ , ale dodatkowo do układu wprowadzano również bufor octanowy. Z kolei w pracy Oskoueiana i in. (2015) efektywność zmiatania również wyrażano w procentach zdolności zmiatania (redukcji) DPPH $\cdot$ , ale użyto roztworu wyjściowego rodnika o stężeniu 100  $\mu\text{M}$ , bez wymienionego buforu. Ważnym czynnikiem rozstrzygającym kwestię efektywności antyoksydacyjnego działania kwasu wanilinowego w warunkach fizjologicznych mogą więc być dane z badań *in vivo*. Obecnie jednak liczba takich doniesień jest ograniczona. Należy zauważyć, że w ciągu ostatnich 5 lat wzrosła ogólna liczba badań dotyczących różnorodnych aktywności biologicznych kwasu wanilinowego, w tym jego działania przeciwutleniającego – wzrost liczby publikacji obejmuje również prace na podstawie badań *in vivo*. Właściwości przeciwutleniające kwasu wanilinowego potwierdzili Calixto-Campos i in. (2015) w badaniach *in vivo*. Kwas wanilinowy w dawce 3 lub 30 mg/kg jednorazowo został podany myszom, u których następnie karagenem (polisacharydy o działaniu prozapalnym) wywołano stan zapalny łapy. Na podstawie oznaczeń z wykorzystaniem metody FRAP (ang. *ferric reducing antioxidant power*, zdolność redukująca) redukcji kationorodnika ABTS $^{+\cdot}$ , oceny redukcji glutationu oraz pomiarów stężenia produktów peroksydacji lipidów – TBARS (ang. *thiobarbituric acid-reactive substances*, substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym) badacze wykazali, że kwas wanilinowy ogranicza

nasilenie stresu oksydacyjnego oznaczanego w próbkach skóry pobranych z łap myszy (Calixto-Campos i in., 2015). Ponadto zainteresowanie badaczy obejmowało również ocenę aktywności przeciwutleniającej ekstraktów z roślin, w których zidentyfikowano kwas wanilinowy (tab. 1).

Tabela 1. Ocena aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów z roślin bogatych w kwas wanilinowy *in vitro*

Ekstrakt bogaty w kwas wanilinowy	Stężenie	Działanie	Literatura
1	2	3	4
Różne gatunki pszenicy (ekstrakty metanolowe)	Kwas wanilinowy: 574,3 mg w 10 kg suchej masy	– 25-procentowe zmiatanie rodnika DPPH* w pomiarach z użyciem całych ziaren zboża – 60-procentowe zmiatanie rodnika DPPH* przez otręby	Li i in. (2005b)
Ekstrakt z korzeni <i>Trichilia emetica</i> (izolowany mieszaniną metanolu i 10-procentowego kwasu octowego)	Kwas wanilinowy: przed hydrolizą alkaliczną – 0,1031 ± 0,043 mg/g suchej masy, po hydrolizie alkalicznej – 1,3964 ± 0,009 mg/g suchej masy	– zahamowanie procesu utleniania MeLo (ang. <i>methyl linoleate</i> , linolenian metylu) oraz procesu peroksydacji lipidów indukowanej askorbinianem/Fe <sup>2+</sup> w mikrosomach szczurów	Germano i in. (2006)
Ekstrakt z <i>Rubus chingii</i> (etanolowy)	Autorzy nie podają zakresu badanych stężeń, lecz jedynie wartości IC <sub>50</sub>	– zmiatanie rodnika DPPH* (IC <sub>50</sub> ekstraktu = 17,9 ± 0,50 µg/ml, IC <sub>50</sub> kw.wanilinowego = 34,9 ± 1,01 µM)	Ding (2011)
Kielki brokułu (mieszanka uzyskana po symulowanym trawieniu płynem gastrycznym)	Kwas wanilinowy: 14,57 ± 0,58 µg/g świeżej masy	– hamowanie peroksydacji lipidów – brak wpływu na chelatowanie jonów, zdolność redukcyjną oraz zmiatanie rodników – modulowanie aktywności enzymów antyoksydacyjnych (lipooksygenaza: –8,26%, katalaza: +6%, dysmutaza ponadtlenkowa: –3,72%)	Świeca i in. (2012)
Ekstrakty z jagody, jeżyny i truskawki (frakcja ekstrahowana 80-procentowym metanolem)	0, 0,5, 1, 2 mg/ml ekstraktu z jagody, jeżyny i truskawki	– zmiatanie rodnika DPPH* (EC <sub>50</sub> jagoda = 0,42 mg/ml, EC <sub>50</sub> jeżyna = 0,44 mg/ml, EC <sub>50</sub> truskawka = 0,81 mg/ml) – zmiatanie rodnika ABTS <sup>+</sup> *	Huang i in. (2012)
Otręby uzyskane z pigmentowanych odmian ryżu (ekstrakty uzyskane mieszaniną aceton-H <sub>2</sub> O; 40 : 60, v/v)	Czarny ryż: 109 ± 1,2 mg%, czerwony ryż: 129,7 ± 0,8 mg%, zielony ryż: 51,5 ± 0,8 mg%, brązowy ryż: 76,3 ± 1,0 mg%	– zmiatanie rodników DPPH* (EC <sub>50</sub> ryż czarny = 195,1 ± 1,3 µg/ml, EC <sub>50</sub> ryż czerwony = 112,6 ± 0,4 µg/ml) – zmiatanie rodników ABTS <sup>+</sup> * (EC <sub>50</sub> ryż czarny = 445,3 ± 7,2 µg/ml, EC <sub>50</sub> ryż czerwony = 338,5 ± 7,9 µg/ml) – redukcja jonów Fe <sup>3+</sup> (EC <sub>50</sub> ryż czarny = 252,3 ± 12,5 µg/ml, EC <sub>50</sub> ryż czerwony = 174,3 ± 2,0 µg/ml) – działanie chelatujące jony metali (EC <sub>50</sub> ryż czerwony > 1500 µg/ml, EC <sub>50</sub> ryż zielony > 1500 µg/ml, EC <sub>50</sub> ryż brązowy > 1500 µg/ml)	Jun i in. (2012)

Tabela 1 – cd.

1	2	3	4
Ekstrakt z miąższu palmy bogaty w fenole (ekstrakt metanolowy)	Kwas wanilinowy: 7,6 ± 0,14 mg/g masy bogatej w fenole	– zmiatanie rodnika DPPH* (IC <sub>50</sub> ekstraktu = 24,6 µg/ml) – zdolność redukcyjna (IC <sub>50</sub> ekstraktu = 31,2 µg/ml) – hamowanie odbarwienia β-karotenu (IC <sub>50</sub> ekstraktu = 37,1 µg/ml) – zmniejszenie stężenia substancji działających z kwasem tiobarbiturowym (IC <sub>50</sub> ekstraktu = 42,9 µg/ml) – zmniejszenie peroksydacji lipidów – zwiększenie aktywności dysmutazy nadtlenkowej i katalazy	Oskoueian i in. (2015)

W aspekcie oceny znaczenia efektu biologicznego aktywności antyoksydacyjnej kwasu wanilinowego należy przede wszystkim podkreślić jego ochronny wpływ na proces peroksydacji lipidów. Ten fenolokwas może być jednym z ważnych naturalnych przeciwutleniaczy chroniących lipidowe składniki np. błon biologicznych. Skuteczność kwasu wanilinowego oraz ekstraktów roślinnych bogatych w ten związek jako substancji chroniących lipidy przed peroksydacją oceniano, stosując różne modele badawcze, takie jak oleje, emulsje, mikrosomy lub komórki. W badaniach z użyciem kwasu linoleinowego jako układu modelowego kwas wanilinowy (o stężeniu 1 mM) hamował peroksydację lipidów o 12,5%. Peroksydację inicjowano poprzez wprowadzenie do układu badawczego FeSO<sub>4</sub> oraz kwasu askorbinowego, a jej poziom oznaczano na podstawie pomiaru generowania dialdehydu malonowego, tworzącego barwny produkt w reakcji z kwasem tiobarbiturowym (Simić i in., 2007). Podobnie stosując oznaczenia TBARS, wykazano 15-procentowe ograniczenie peroksydacji lipidów błon erytrocytarnych przez kwas wanilinowy (100 µg/ml) wyizolowany z wodnego ekstraktu z *Mesona procumbens* Hemsl. Stosując metodę z tiocyjanianem, dla stężenia 200 µg/ml kwasu wanilinowego odnotowano 65-procentową redukcję peroksydacji lipidów błonowych (Hung i Yen, 2002). W badaniach *in vivo*, w których oceniano działanie kwasu wanilinowego z soku z winogron (444,92 ± 20,94 mg/l), wykazano, że spożywanie napoju z czerwonych winogron w ilości 400 ml dziennie przez 2 tygodnie ograniczało peroksydację lipidów, mierzoną poziomem wodoronadtlenków lipidów oraz TBARS w osoczu (Toaldo i in., 2015).

### Właściwości przeciwzapalne

W odróżnieniu od stopnia zaawansowania prac badawczych dotyczących działania przeciwutleniającego kwasu wanilinowego, aktywność przeciwzapalna tego związku jest znacznie lepiej udokumentowana badaniami *in vivo*, chociaż, jak do tej pory, były to tylko badania na modelu zwierzęcym. Wiadomo, że kwas wanilinowy wykazuje działanie przeciwbólowe i przeciwzapalne. Podawany dootrzewnowo myszom (3–30 mg/kg masy ciała) hamował uczucie bólu wywołane podaniem kwasu octowego (0,8%; 10 ml/kg m.c.) lub fenylo-p-benzochinonu (1890 µg/kg m.c.). Ponadto, kwas wanilinowy ograniczał skutki stanu zapalnego łapy u myszy, którym podano formalinę lub kom-

pletny adiuwant Freunda. U myszy ze stanem zapalnym łapy (indukowanym karagenem) zaobserwowano zahamowanie aktywności mieloperoksydazy oraz N-acetylo- $\beta$ -D-glukozaminidazy. Kwas wanilinowy hamował również syntezę IL-1 $\beta$  (ang. *interleukin*, interleukina), TNF- $\alpha$  (ang. *tumor necrosis factor*, czynnik martwicy nowotworu), IL-33 oraz aktywację regulatora transkrypcji NF $\kappa$ B (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*, jądrowy czynnik transkrypcyjny) w tkankach łapy (Calixto-Campos i in., 2015). Badania mechanizmów przeciwbólowego działania kwasu wanilinowego wykazały jego wpływ na receptory TPRV1, TRPA1 i TRPM8 (rodzina receptorów przejściowego potencjału TRP, ang. *transient receptor potential*) oraz na wrażliwe na kwasy kanały jonowe (ang. *acid-sensing ion channels*) (de los Angeles Yrbas i in., 2015). W badaniach na mysich makrofagach otrzewnowych przeciwwzapalne działanie kwasu wanilinowego (1–100  $\mu$ M) obejmowało zahamowanie aktywacji czynnika transkrypcji NF- $\kappa$ B oraz zależnych od jego aktywacji szlaków przekazywania sygnałów. Odnotowano spadek syntezy prozapalnych cytokin: TNF- $\alpha$  (o 61,38%) oraz interleukiny 6 (IL-6, o 38,62%), a także supresję genów dla cyklooksygenazy 2 (ang. *cyclooxygenase-2*, COX-2), prowadzącą w konsekwencji do zmniejszenia syntezy prozapalnych prostanoidów (Kim i in., 2011). Efekt przeciwwzapalny kwasu wanilinowego zaobserwowano również w badaniach na mysim modelu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego, indukowanego podaniem siarczanu sodowego dekstranu. W tkankach jelita zwierząt poddanych leczeniu kwasem wanilinowym (200 mg/kg m.c., przez 7 dni) stwierdzono osłabienie ekspresji czynnika NF $\kappa$ B oraz COX-2, a także spadek syntezy IL-6, w porównaniu z tkankami myszy niepoddawanych terapii fenolokwasem (Kim i in., 2010). W przeciwieństwie do opisywanych powyżej wyników badań *in vivo*, przeciwwzapalnego efektu kwasu wanilinowego ( $10^{-7}$ – $10^{-4}$  M) nie odnotowano w doświadczeniach na hodowli komórek krwi pełnej, poddanych stymulacji lipopolisacharydem (Miles i in., 2005).

Przedmiotem badań naukowców pod względem przeciwwzapalnej aktywności kwasu wanilinowego stały się również ekstrakty roślinne. Wykonano m.in. badania porównawcze obejmujące dootrzewnowe podanie myszom ekstraktu z *Lentinula edodes* (0,1–200 mg/kg m.c.) lub syntetycznego kwasu wanilinowego w dawce 0,1 i 10 mg/kg m.c. Stan zapalny u zwierząt wywołano konkanawaliną A (20 mg/kg m.c.). W grupie myszy, którym podawano ekstrakt lub fenolokwas, nastąpił spadek poziomu aminotransferazy asparaginianowej i alaninowej w surowicy krwi. Kwas wanilinowy powodował także spadek poziomu cytokin prozapalnych, takich jak TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  (ang. *interferon gamma*) oraz IL-6 (Itoh i in., 2009). Itoh i in. (2010) opublikowali wyniki badań dotyczących wpływu kwasu wanilinowego oraz ekstraktu z *Lentinula edodes* na myszy ze stanem zapalnym wątroby. Kwas wanilinowy lub ekstrakt podawane dożylnie przez 4 tygodnie (2 razy w tygodniu, w dawce 10 mg/kg m.c.) nie tylko obniżały poziom osoczowych aminotransferaz, lecz także działały ochronnie na strukturę wątroby. W grupie zwierząt, którym podawano fenolokwas lub ekstrakt, odnotowano zmniejszoną aktywację komórek gwiaździstych i spadek akumulacji kolagenu, a także obniżenie poziomu hydroksyproliny w wątrobie, będących markerami zwłóknienia tego organu (Itoh i in., 2010). W badaniach innego zespołu etanolowy ekstrakt z *Amburana cearensis* oraz kwas wanilinowy izolowany z tej rośliny (podawane odpowiednio w dawkach 100–400 mg/kg m.c. lub 12,5–50 mg/kg m.c., przez 4,7 lub 9 miesięcy) hamowały wywołany karagenem obrzęk łapy u myszy (Leal i in., 2011). Przeciwwzapalne właściwości stwier-

dono także, badając aktywność farmakologiczną 1,3,4-oksadiazolowych pochodnych kwasu wanilinowego (5 mM), którymi traktowano komórki węzłów chłonnych myszy uprzednio stymulowanych konkanawaliną A (5 µg/ml). Zaobserwowano zahamowanie syntezy prozapalnych cytokin (IL-1, IL-6 i IL-10), a niektóre z pochodnych wykazywały działanie immunosupresyjne (Tang i in., 2012).

### Działanie kardioprotekcyjne

Aktywność kardioprotekcyjna kwasu wanilinowego została udokumentowana badaniami *in vitro* oraz *in vivo*, a w literaturze można znaleźć wyniki badań potwierdzające m.in. korzystny wpływ kwasu wanilinowego w ograniczaniu skutków stresu oksydacyjnego w układzie sercowo-naczyniowym. Kwas wanilinowy był podawany przez 30 dni w dawce 25, 50 lub 100 mg/kg m.c. szczurom, u których wywołano nadciśnienie, podając inhibitor syntazy tlenu azotu – ester metylowy N $\omega$ -nitro-L-argininy (L-NAME, ang. *No-Nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride*). Terapia ta przywracała prawidłowy poziom aktywności enzymatycznych (dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy, peroksydazy glutationowej) oraz zawartość nieenzymatycznych antyoksydantów (m.in. zredukowanego glutationu) w osoczu krwi (Kumar i in., 2011). Ponadto kwas wanilinowy hamował proces peroksydacji lipidów na różnych jego etapach, co śledzono, mierząc poziom wodoronadtlenków lipidów, TBARS oraz koniugatów dienów. W grupie badanych zwierząt zaobserwowano też obniżenie ciśnienia krwi oraz spadek tworzenia osoczowych azotanów/azotynów (Kumar i in., 2011). Ten sam zespół badawczy wykonał dalsze badania, w których szczurom podawano drogą pokarmową przez 30 dni inhibitor L-NAME w dawce 40 mg/kg m.c., a następnie przez 30 dni kwas wanilinowy w dawce 50 mg/kg m.c. Nie tylko potwierdzono hipotensyjne działanie fenolokwasu, lecz także zaobserwowano, że wpływał on korzystnie na profil lipidowy osocza badanych szczurów (obniżenie poziomu całkowitego cholesterolu, trójglicerydów, lipoprotein o małej i bardzo małej gęstości, wolnych kwasów tłuszczowych, fosfolipidów) oraz profil lipidowy wątroby i nerek (spadek poziomu całkowitego cholesterolu, trójglicerydów, fosfolipidów, wolnych kwasów tłuszczowych). Terapia kwasem zwiększała także aktywność acetylotransferazy lecytynowo-cholesterolowej oraz lipazy lipoproteinowej, a w badaniach histopatologicznych stwierdzono zmniejszenie uszkodzeń aorty wywołanych działaniem inhibitora L-NAME (Kumar i in., 2014). Z kolei 10-dniowa terapia prewencyjna, obejmująca zastosowanie fenolokwasu w dziennych dawkach 5 lub 10 mg/kg m.c. zwierząt, znacząco zmniejszała skutki kardiotoksycznego działania izoproterenolu (100 mg/kg m.c.). Profilaktyczne podanie kwasu wanilinowego skutkowało obniżeniem poziomu jednego z głównych biomarkerów uszkodzeń mięśnia sercowego – troponin w surowicy krwi, a także spadkiem peroksydacji lipidów oraz niższym poziomem aktywności enzymów antyoksydacyjnych (dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy glutationowej, katalazy i reduktazy glutationowej) w tkankach serca. W tkance serc zwierząt, którym podano fenolokwas, stwierdzono również spadek ekspresji genów dla prozapalnych cytokin, takich jak IL-1 $\beta$ , IL-6 oraz TNF- $\alpha$  (Prince i in., 2011).

W innych badaniach, obejmujących podanie zwierzętom kwasu wanilinowego (przez 10 dni drogą pokarmową, w dziennej dawce 5 i 10 mg/kg m.c.) i wywołanie niedokrwienia/reperfuzji *in vitro* (po izolacji serca), nie odnotowano istotnego wpływu badanego związku na poziom dialdehydu malonowego oraz aktywność dysmutazy po-



nadtlenkowej, peroksydazy glutationowej i katalazy. Doświadczenia na izolowanych sercach nie wykazały również wpływu kwasu wanilinowego na aktywność enzymatycznych markerów niedokrwienia, tj. dehydrogenazy mleczanowej i kinazy kreatynowej (Dianat i in., 2014). Jednak w dalszych badaniach *in vivo* kwas wanilinowy podawany myszom przez 10 dni w dawce 10 mg/kg m.c. zmniejszał skutki stresu oksydacyjnego związanego z wystąpieniem niedokrwienia mięśnia sercowego, takie jak nasiloną aktywację oksydazy ksantynowej oraz peroksydacja lipidów. Jednocześnie odnotowano stymulację odpowiedzi antyoksydacyjnej organizmu, obejmującą wzrost aktywności katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej oraz peroksydazy glutationowej (Dianat i in., 2016a). Ochronne/kardioprotekcyjne działanie kwasu wanilinowego wykazano też w innych badaniach *in vivo*, w których szczurom wkraplano pyłek powodujący niedokrwienie/reperfuzję, a następnie podawano kwas wanilinowy (10 mg/kg m.c.). W tkance serc zaobserwowano spadek aktywności enzymów antyoksydacyjnych (dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy glutationowej i katalazy), a także biomarkerów niedokrwienia – oksydazy ksantynowej i dehydrogenazy mleczanowej (Dianat i in., 2016b). W badaniu, gdzie szczurom podawano kwas wanilinowy w dawce 5 lub 10 mg/kg m.c. przez 10 dni, a następnie wywołano zawał serca, zaobserwowano, że kwas wanilinowy modulował aktywność pomp jonowych. Hamował aktywność  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPazy, a zwiększał aktywność  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$ ATPazy. Wykazano także, że hamował ekspresję genów apoptotycznych mięśnia sercowego: Fas-receptora oraz kaspaz 8, 9 i 3 u szczurów z wywołanym zawałem serca (Prince i in., 2015).

## Inna aktywność biologiczna

### Właściwości przeciwrzybicze i przeciwbakteryjne

W warunkach *in vitro* kwas wanilinowy zastosowany w stężeniu 5 mM hamował produkcję ochratoksyny A w hodowli kropidlaka pomarańczowego (*Aspergillus alliaceus* O-106), a w stężeniu 10 mM ograniczał również wydzielanie tej mikotoksyny oraz wzrost kolonii większości badanych szczepów kropidlaka (Palumbo i in., 2007). Z kolei w innych badaniach, dotyczących właściwości przeciwbakteryjnych, kwas wanilinowy w stężeniach 100, 250 i 500  $\mu\text{M}$  hamował adhezję uropatogennych *Escherichia coli* (UPEC) ATCC®53503™ do komórek nabłonka pęcherza T24 o – odpowiednio – 18, 24 oraz 29% (González de Llano i in., 2015).

### Wpływ na proliferację komórek w różnych układach doświadczalnych

Zespół chińskich badaczy wykazał, że bioaktywne składniki ekstraktu z *Sambucus williamsii* Hance zapobiegają utracie masy kostnej u myszy z niedoborami estrogenów, wywołanymi owariektomią. W celu oceny ochronnego – estrogennego działania kwasu wanilinowego wyizolowanego z tego ekstraktu wykonano dalsze badania z wykorzystaniem linii komórkowej szczurzych osteoblastów UMR 106, w których wykazano, że fenolokwas ten stymuluje ich proliferację, nasila działanie fosfatazy alkalicznej oraz wpływa na ekspresję mRNA genów zaangażowanych w funkcje osteoblastów i osteoklastów. W stężeniach mikromolowych kwas wanilinowy działał na receptory estrogenowe  $\text{ER}\alpha$  i  $\text{ER}\beta$  (Xiao i in., 2014), z kolei w stężeniach  $10^{-5}$ – $10^{-8}$  M kwas wanilinowy izolowany z oliwy z oliwek nie wpływał na proliferację osteoblastów (MG-63) (García-Martínez i in., 2016). Inny zespół opisał wpływ kwasu wanilinowego o stężeniu 10 mM

izolowanego z oliwy z oliwek na żywotność ludzkich fibroblastów dziąsłowych GN61, komórek nabłonka dziąsła S-G i komórek linii HSG1 ocenianą w teście cytotoksyczności z czerwienią obojętną (NR). Zaobserwowano 10-procentowe hamowanie żywotności komórek ludzkich fibroblastów dziąsłowych GN61 oraz 20-procentowe hamowanie żywotności komórek nabłonka dziąsła S-G i komórek linii nowotworowej HSG1 (Babich i Visioli, 2003).

### **Właściwości przeciwnowotworowe**

Przeciwnowotworowe działanie kwasu wanilinowego może obejmować różne etapy kancerogenezy, a także ograniczanie proliferacji komórek transformowanych. Fenolokwas ten działa już na etapie mutagenezy. W badaniach z zastosowaniem kwasu 3-(5-nitro-2-furylo)-akrylowego jako mutagenu zaobserwowano 20-procentowe hamowanie przez kwas wanilinowy o stężeniu 500 µg w 0,1 ml powstawania mutantów *Salmonella typhimurium* (Birošová i in., 2005). W dalszych doświadczeniach Birošovej i in. (2007) kwas wanilinowy w stężeniach 0,039, 0,079, 0,157, 0,313 oraz 0,635 mM zmniejszał częstość występowania mutacji spontanicznych, prowadzących do nabywania oporności *Salmonella enterica* subsp. *enterica* na ciprofloksacyne, ale także na tetracyklinę i gentamycynę. Ponadto, kwas wanilinowy w stężeniach 0,07, 0,15 i 0,3 mM zmniejszał częstość mutacji indukowanych przez kwas 3-(5-nitro-2-furylo)-akrylowy, azydek sodu i nadtlenuk wodoru, a prowadzących do wystąpienia oporności tych bakterii na ciprofloksacyne (Birošová i in., 2007).

Kwas wanilinowy pozyskany z 40-procentowego metanolowego ekstraktu z *Polygonum bistorta* L. wykorzystywano w doświadczeniach na liniach ludzkiego nowotworu wątroby HCCLM3. Wykazano, że posiada on właściwości cytotoksyczne względem badanych komórek ( $IC_{50}$  = ok. 800 µg/ml) (Intisar i in., 2013). Ponadto sugeruje się, że kwas wanilinowy może być przydatny jako naturalny związek łagodzący skutki uboczne chemioterapii. Podawany szczurom w stężeniu 50 lub 100 mg/kg m.c. łagodził nefrotoksyczność z wywołaną cisplatyną. U badanych zwierząt odnotowano również obniżenie poziomu kreatyniny w surowicy krwi, spadek stężenia azotu mocznikowego i kwasu moczowego we krwi. Ponadto, poprzez ocenę enzymatycznych i nieenzymatycznych biomarkerów stresu oksydacyjnego, stwierdzono działanie przeciwutleniające badanego fenolokwasu. Kwas wanilinowy powodował także przywrócenie do prawidłowego poziomu ekspresji mRNA dla czynników: TNF- $\alpha$ , NF $\kappa$ B, IL-2 i IL-10 (Sindhu i in., 2015).

### **Ocena właściwości hepato- i neuroprotektynych**

Kwas wanilinowy może wykazywać właściwości ochronne wobec komórek Neuro-2A, w których nastąpiła apoptoza związana z powstawaniem metylo-gliksalu. Wykazano, że ma to związek z hamowaniem przez kwas wanilinowy (w stężeniu 20–100 µM) powstawania reaktywnych form tlenu, aktywacji szlaku MAPK – kinaz aktywowanych mitogenami (ang. *mitogen-activated protein kinases*): p38 i JNK (kinaza c-Jun N-terminalna, ang. *c-Jun N-terminal kinase*), ekspresji białek wrażliwych na utlenianie (PKC – białkowe kinazy C, ang. *protein kinases C*) oraz p47 i tworzenia pochodnych metylo-gliksalu, co ogólnie jest związane z ochronną rolą kwasu wanilinowego wobec procesu glikacji białek, która może się przyczyniać do występowania neuropatii (Huang i in., 2008). Kwas wanilinowy (0,1, 1, 10 µM) izolowany z 80-procentowego metanolowego ekstraktu z korzeni *Cynanchum paniculatum* nie wykazywał działania neuroprotektynego w badaniach na liniach komórkowych HT22, eksponowanych na cytotox-

syczne dawki glutaminianu (Weon i in., 2012). Brak wpływu kwasu wanilinowego izolowanego z *Hovenia dulcis* w stężeniach 0,5, 1 i 5  $\mu\text{M}$  na neurotoksyczność indukowaną glutaminianem w badaniach na mysich liniach komórkowych HT22 odnotowali również Li i in. w 2005 roku (Li i in., 2005a).

Kwas wanilinowy jest uważany za związek, który mógłby być pomocny w terapii chorób, którym towarzyszy podwyższenie poziomu bilirubiny w osoczu krwi. Badania na zwierzęcym modelu marskości wątroby wykazały, że podawanie kwasu w dawce 10 mg/kg przez 4 tygodnie obniża poziom bilirubiny w osoczu (Atefipour i in., 2016). Badania porównawcze wpływu kwasów fenolowych (kawowego, cynamonowego, ferulowego, protokatechowego, rozmarynowego, synapinowego, syringowego oraz wanilinowego) na wychwyt glukozy przez komórki hepatocytów linii FL83B wykazały, że kwas wanilinowy (12,5–100  $\mu\text{M}$ ) zwiększał tę zdolność. W dalszych pracach badawczych na szczurach karmionych dietą o dużej zawartości tłuszczu podawanie kwasu wanilinowego drogą pokarmową przez 13–16 tygodni (30 mg/kg) obniżało poziom insuliny, glukozy, trójglicerydów i wolnych kwasów tłuszczowych w surowicy krwi. Regulujący wpływ kwasu na metabolizm glukozy dotyczył również redukcji insulinooporności u badanych szczurów. Badany związek hamował ekspresję receptora insuliny, kinazy 3-fosfatydyloinozytolu, transportera 2 glukozy oraz fosforylowanej karbosylazy acetylo-CoA, a także działał supresyjnie na aktywację genów dla białek prozapalnych: cyklooksygenazy 2 oraz białka chemotaktycznego 1 dla monocytów (Chang i in., 2015). Kwas wanilinowy może również działać hepatoprotekcyjnie i nefroprotekcijnie w przypadku zatrucia acetaminofenem (paracetamolem). Badania na szczurach poddanych intoksykacji wymienionym lekiem (750 mg/kg m.c., przez 7 dni) wykazały, że zastosowanie terapii kwasem wanilinowym (100 mg/kg m.c., przez 7 dni) wyraźnie ograniczało toksyczne działanie acetaminofenu, co potwierdzono badaniami profilu lipidowego osocza krwi, markerów funkcji nerek oraz obrazowaniem histopatologicznym (Mol i Raja, 2010).

## Podsumowanie

Obecny stan wiedzy dotyczący aktywności biologicznej kwasu wanilinowego sugeruje, że związek ten charakteryzuje się szerokim zakresem działania, obejmującym właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, hepato- i neuroprotekcyjne, a także antybakteryjne i przeciwrzybicze. Tak szeroki zakres aktywności sprzyja zastosowaniu tego związku w celach profilaktycznych czy leczniczych – chociaż, jak wskazują dostępne dane, jeszcze nie wykonano niezbędnych badań klinicznych potwierdzających wymienione efekty fizjologiczne w organizmie człowieka. Dostępne są jedynie wyniki badań dotyczących aktywności farmakologicznej dietylowego amidu kwasu wanilinowego (Fruhmann i Specht, 1970; Miller i in., 1961).

Aby potwierdzić właściwości farmakologiczne, niezbędne są dalsze badania, zarówno przedkliniczne, jak i kliniczne. Jak dotąd, najbardziej zaawansowanymi pracami badawczymi dotyczącymi kwasu wanilinowego są badania kardioprotekcyjnej i przeciwzapalnej aktywności tego związku – w tej dziedzinie wykonano najwięcej badań *in vivo* (na modelach zwierzęcych). Rozpatrując możliwe farmakologiczne zastosowania kwasu wanilinowego, należy również wymienić jego aktywność neuroprotekcijną.

Pomimo niespójnych danych z badań podstawowych (opisywanych wcześniej) istnieją jednak obiecujące wyniki prac badawczych, m.in. na myszach, wskazujące, że związek ten może ograniczać procesy zapalne w układzie nerwowym i spowalniać procesy neurodegeneracyjne, np. w przebiegu choroby Alzheimera (Amin i in., 2017; Singh i in., 2015).

## Literatura

- Amin, F. U., Shah, Sh. A., Kim, M. O. (2017). Vanillic acid attenuates A $\beta$ <sub>1-42</sub>-induced oxidative stress and cognitive impairment in mice. *Sci. Rep.*, 7: 40753. <http://dx.doi.org/10.1038/srep40753>
- de los Angeles Yrbas, M., Morucci, F., Alonso, R., Gorzalczy, S. (2015). Pharmacological mechanism underlying the antinociceptive activity of vanillic acid. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 132, 88–95. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2015.02.016>
- Atefipour, N., Dianat, M., Badavi, M., Sarkaki, A. (2016). Ameliorative effect of vanillic acid on serum bilirubin, chronotropic and dromotropic properties in the cholestasis-induced model rats. *Electron. Phys.*, 8, 5, 2410–2415. <http://dx.doi.org/10.19082/2410>
- Babich, H., Visioli, F. (2003). *In vitro* cytotoxicity to human cells in culture of some phenolics from olive oil. *Farmaco*, 58, 5, 403–407. [https://dx.doi.org/10.1016/S0014-827X\(03\)00048-X](https://dx.doi.org/10.1016/S0014-827X(03)00048-X)
- Birošová, L., Mikulášová, M., Vaverková, Š. (2005). Antimutagenic effect of phenolic acids. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.*, 149, 2, 489–491. <http://dx.doi.org/10.5507/bp.2005.087>
- Birošová, L., Mikulášová, M., Vaverková, Š. (2007). Phenolic acids from plant foods can increase or decrease the mutation frequency to antibiotic resistance. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 25, 10183–10186. <http://dx.doi.org/10.1021/jf072009r>
- Bourne, L. C., Rice-Evans, C. A. (1997). The effect of the phenolic antioxidant ferulic acid on the oxidation of low density lipoprotein depends on the pro-oxidant used. *Free Radic. Res.*, 27, 3, 337–344. <http://dx.doi.org/10.3109/10715769709065771>
- Budryn, G., Nebesny, E. (2006). Fenolokwasy – ich właściwości, występowanie w surowcach roślinnych, wchłanianie i przemiany metaboliczne. *Bromatol. Chem. Toksykol.*, 39, 2, 103–110.
- Calixto-Campos, C., Carvalho, T. T., Hohmann, M. S. N., Pinho-Ribeiro, F. A., Fattori, V., Manchope, M. F., Zarpelon, A. C., Baracat, M. M., Georgetti, S. R., Casagrande, R., Verri, W. A. Jr. (2015). Vanillic acid inhibits inflammatory pain by inhibiting neutrophil recruitment, oxidative stress, cytokine production, and NF $\kappa$ B activation in mice. *J. Nat. Prod. (Lloydia)*, 78, 8, 1799–1808. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00246>
- Chang, W.-Ch., Wu, J. S.-B., Chen, Ch.-W., Kuo, P.-L., Chien, H.-M., Wang, Y.-T., Shen, Sz.-Ch. (2015). Protective effect of vanillic acid against hyperinsulinemia, hyperglycemia and hyperlipidemia via alleviating hepatic insulin resistance and inflammation in high-fat diet (HFD)-fed rats. *Nutrients*, 7, 12, 9946–9959. <http://dx.doi.org/10.3390/nu7125514>
- Chou, T.-H., Ding, H.-Y., Hung, W. J., Liang, Ch.-H. (2010). Antioxidative characteristics and inhibition of  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone-stimulated melanogenesis of vanillin and vanillic acid from *Origanum vulgare*. *Exp. Dermatol.*, 19, 8, 742–750. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0625.2010.01091.x>
- Dianat, M., Hamzavi, Gh. R., Badavi, M., Samarbafzadeh, A. (2014). Effects of losartan and vanillic acid co-administration on ischemia-reperfusion-induced oxidative stress in isolated rat heart. *Iran. Red Crescent Med. J.*, 16, 7, e16664. <http://dx.doi.org/10.5812/ircmj.16664>
- Dianat, M., Radmanesh, E., Badavi, M., Goudarzi, Gh., Mard, S. A. (2016a). The effects of PM<sub>10</sub> on electrocardiogram parameters, blood pressure and oxidative stress in healthy rats: the protective effects of vanillic acid. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 23, 19, 19551–19560. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-7168-1>

- Dianat, M., Radmanesh, E., Badavi, M., Mard, S. A., Goudarzi, Gh. (2016b). Disturbance effects of PM<sub>10</sub> on iNOS and eNOS mRNA expression levels and antioxidant activity induced by ischemia-reperfusion injury in isolated rat heart: protective role of vanillic acid. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 23, 6, 5154–5165. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-015-5759-x>
- Ding, H.-Y. (2011). Extracts and constituents of *Rubus chingii* with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity. *Int. J. Mol. Sci.*, 12, 6, 3941–3949. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms12063941>
- Fruhmann, G., Specht, H. (1970). Respiratory stimulation with vanillic acid diethylamide in chronic bronchitis and respiratory insufficiency. *Med. Klin. (Munich)*, 65, 36, 1570–1576.
- García-Martínez, O., De Luna-Bertos, E., Ramos-Torrecillas, J., Ruiz, C., Milia, E., Lorenzo, M. L., Jimenez, B., Sánchez-Ortiz, A., Rivas, A. (2016). Phenolic compounds in extra virgin olive oil stimulate human osteoblastic cell proliferation. *PLoS ONE*, 11, 3: e0150045. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0150045>
- Gawlik-Dziki, U. (2004). Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. *Żywn. Nauka Technol. Jakość*, 41, 4, Supl., 29–40.
- Germano, M. P., D’Angelo, V., Biasini, T., Sanogo, R., De Pasquale, R., Catania, S. (2006). Evaluation of the antioxidant properties and bioavailability of free and bound phenolic acids from *Trichilia emetica* Vahl. *J. Ethnopharmacol.*, 105, 368–373. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.11.029>
- González de Llano, D., Esteban-Fernández, A., Sánchez-Patán, F., Martín-Álvarez, P. J., Moreno-Arribas, M. V., Bartolomé, B. (2015). Anti-adhesive activity of cranberry phenolic compounds and their microbial-derived metabolites against uropathogenic *Escherichia coli* in bladder epithelial cell cultures. *Int. J. Mol. Sci.*, 16, 6, 12119–12130. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms160612119>
- Huang, Sh.-M., Hsu, Ch.-L., Chuang, H.-Ch., Shih, P.-H., Wu, Ch.-H., Yen, G.-Ch. (2008). Inhibitory effect of vanillic acid on methylglyoxal-mediated glycation in apoptotic Neuro-2A cells. *Neurotoxicology*, 29, 6, 1016–1022. <https://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2008.07.002>
- Huang, W.-Y., Zhang, H.-Ch., Liu, W.-X., Li, Ch.-Y. (2012). Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, 13, 2, 94–102. <https://dx.doi.org/10.1631/jzus.B1100137>
- Hung, Ch.-Y., Yen, G.-Ch. (2002). Antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Mesona procumbens* Hemsl. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 10, 2993–2997. <http://dx.doi.org/10.1021/jf011454y>
- Intisar, A., Zhang, L., Luo, H., Kiazolu, J. B., Zhang, R., Zhang, W. (2013). Anticancer constituents and cytotoxic activity of methanol-water extract of *Polygonum bistorta* L. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, 10, 1, 53–59. <http://dx.doi.org/10.4314/ajtcam.v10i1.9>
- Itoh, A., Isoda, K., Kondoh, M., Kawase, M., Kobayashi, M., Tamesada, M., Yagi, K. (2009). Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on concanavalin A-induced liver injury. *Biol. Pharm. Bull.*, 32, 7, 1215–1219. <http://dx.doi.org/10.1248/bpb.32.1215>
- Itoh, A., Isoda, K., Kondoh, M., Kawase, M., Watari, A., Kobayashi, M., Tamesada, M., Yagi, K. (2010). Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on CCL<sub>4</sub>-induced liver injury. *Biol. Pharm. Bull.*, 33, 6, 983–987. <http://dx.doi.org/10.1248/bpb.33.983>
- Jeszka, M., Flaczyk, E., Kobus-Cisowska, J., Dziedzic, K. (2010). Związki fenolowe – charakterystyka i znaczenie w technologii żywności. *Nauka Przyr. Technol.*, 4, 2, #19.
- Jun, H.-I., Song, G.-S., Yang, E.-I., Youn, Y., Kim, Y.-S. (2012). Antioxidant activities and phenolic compounds of pigmented rice bran extracts. *J. Food Sci.*, 77, 7, C759–C764. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02763.x>
- Kim, M.-Ch., Kim, S.-J., Kim, D.-S., Jeon, Y.-D., Park, S. J., Lee, H. S., Um, J.-Y., Hong, S.-H. (2011). Vanillic acid inhibits inflammatory mediators by suppressing NF-κB in lipopolysaccharide-stimulated mouse peritoneal macrophages. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 33, 3, 525–532. <http://dx.doi.org/10.3109/08923973.2010.547500>

- Kim, S.-J., Kim, M.-Ch., Um, J.-Y., Hong, S.-H. (2010). The beneficial effect of vanillic acid on ulcerative colitis. *Molecules*, 15, 10, 7208–7217. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules15107208>
- Kumar, S., Prahalathan, P., Raja, B. (2011). Antihypertensive and antioxidant potential of vanillic acid, a phenolic compound in L-NAME-induced hypertensive rats: a dose-dependence study. *Redox Rep.*, 16, 5, 208–215. <http://dx.doi.org/10.1179/1351000211Y.0000000009>
- Kumar, S., Prahalathan, P., Raja, B. (2014). Vanillic acid: a potential inhibitor of cardiac and aortic wall remodeling in L-NAME induced hypertension through upregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 38, 2, 643–652. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2014.07.011>
- Leal, L. K. A. M., Pierdoná, T. M., Góes, J. G. S., Fonseca, K. S., Canuto, K. M., Silveira, E. R., Bezerra, A. M. E., Viana, G. S. B. (2011). A comparative chemical and pharmacological study of standardized extracts and vanillic acid from wild and cultivated *Amburana cearensis* A.C. Smith. *Phytomedicine*, 18, 230–233. <https://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2010.05.012>
- Li, G., Min, B.-S., Zheng, Ch., Lee, J., Oh, S.-R., Ahn, K.-S., Lee, H.-K. (2005a). Neuroprotective and free radical scavenging activities of phenolic compounds from *Hovenia dulcis*. *Arch. Pharm. Res.*, 28, 7, 804–809. <https://dx.doi.org/10.1007/BF02977346>
- Li, W., Shan, F., Sun, S., Corke, H., Beta, T. (2005b). Free radical scavenging properties and phenolic content of Chinese black-grained wheat. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 8533–8536. <http://dx.doi.org/10.1021/jf051634y>
- Łuszczewski, A., Matyska-Piekarska, E., Trefler, J., Wawer, I., Łacki, J., Śliwińska-Stańczyk, P. (2007). Reaktywne formy tlenu – znaczenie w fizjologii i stanach patologii organizmu. *Reumatologia*, 45, 5, 284–289.
- Mahmood, T., Anwar, F., Abbas, M., Saari, N. (2012). Effect of maturity on phenolics (phenolic acids and flavonoids) profile of strawberry cultivars and mulberry species from Pakistan. *Int. J. Mol. Sci.*, 13, 4, 4591–4607. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms13044591>
- Majkowska, A., Klepacka, J., Rafałowski, R. (2015). Analiza zawartości związków fenolowych i białka w kaszach gryczanych dostępnych na rynku w województwie warmińsko-mazurskim. *Fragm. Agron.*, 32, 1, 82–91.
- Makarska, E., Michalak, M. (2005). Aktywność przeciwtleniająca kwasów fenolowych jęczmienia jarego. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. E*, 60, 263–269.
- Mathew, S., Abraham, T. E., Zakaria, Z. A. (2015). Reactivity of phenolic compounds towards free radicals under *in vitro* conditions. *J. Food Sci. Technol.*, 52, 9, 5790–5798. <https://dx.doi.org/10.1007/s13197-014-1704-0>
- Miles, E. A., Zoubouli, P., Calder, P. C., Phil, D. (2005). Differential anti-inflammatory effects of phenolic compounds from extra virgin olive oil identified in human whole blood cultures. *Nutrition*, 21, 3, 389–394. <https://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2004.06.031>
- Miller, M. J., Hand, B. M., Crellin, J. A. (1961). Pharmacologic effects of intravenous vanillic acid diethylamide in man. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2, 5, 689–691.
- Mol, S. D., Raja, B. (2010). Therapeutic effects of vanillic acid on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Int. J. Pharm. Biol. Arch.*, 1, 2, 144–149.
- Oskoueian, E., Abdullah, N., Zulkifli, I., Ebrahimi, M., Karimi, E., Goh, Y. M., Oskoueian, A., Shakeri, M. (2015). Cytoprotective effect of palm kernel cake phenolics against aflatoxin B1-induced cell damage and its underlying mechanism of action. *BMC Complement. Altern. Med.*, 15: 392. <http://dx.doi.org/10.1186/s12906-015-0921-z>
- Paganga, G., Miller, N., Rice-Evans, C. A. (1999). The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute? *Free Radic. Res.*, 30, 2, 153–162. <http://dx.doi.org/10.1080/10715769900300161>
- Palumbo, J. D., O’Keefe, T. L., Mahoney, N. E. (2007). Inhibition of ochratoxin A production and growth of *Aspergillus* species by phenolic antioxidant compounds. *Mycopathologia*, 164, 5, 241–248. <https://dx.doi.org/10.1007/s11046-007-9057-0>

- Prince, P. S. M., Dhanasekar, K., Rajakumar, S. (2015). Vanillic acid prevents altered ion pumps, ions, inhibits Fas-receptor and caspase mediated apoptosis-signaling pathway and cardiomyocyte death in myocardial infarcted rats. *Chem. Biol. Interact.*, 232, 68–76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2015.03.009>
- Prince, P. S. M., Rajakumar, S., Dhanasekar, K. (2011). Protective effects of vanillic acid on electrocardiogram, lipid peroxidation, antioxidants, proinflammatory markers and histopathology in isoproterenol induced cardiotoxic rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 668, 233–240. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.06.053>
- Rice-Evans, C. (2001). Flavonoid antioxidants. *Curr. Med. Chem.*, 8, 7, 797–807. <http://dx.doi.org/10.2174/0929867013373011>
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. (1996). Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem. Soc. Trans.*, 24, 3, 790–795. <http://dx.doi.org/10.1042/bst0240790>
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.*, 20, 7, 933–956. [https://dx.doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://dx.doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
- Rice-Evans, C., Spencer, J. P. E., Schroeter, H., Rechner, A. R. (2000). Bioavailability of flavonoids and potential bioactive forms *in vivo*. *Drug Metab. Drug Interact.*, 17, 1–4, 291–310. <https://dx.doi.org/10.1515/DMDI.2000.17.1-4.291>
- Sang, S., Lapsley, K., Jeong, W.-S., Lachance, P. A., Ho, Ch.-T., Rosen, R. T. (2002). Antioxidative phenolic compounds isolated from almond skins (*Prunus amygdalus* Batsch). *J. Agric. Food Chem.*, 50, 8, 2459–2463. <http://dx.doi.org/10.1021/jf011533+>
- Sevgi, K., Tepe, B., Sarikurkcu, C. (2015). Antioxidant and DNA damage protection potentials of selected phenolic acids. *Food Chem. Toxicol.*, 77, 12–21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2014.12.006>
- Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – a review. *J. Funct. Foods*, 18, B, 820–897. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Simić, A., Manojlović, D., Šegan, D., Todorović, M. (2007). Electrochemical behavior and antioxidant and prooxidant activity of natural phenolics. *Molecules*, 12, 10, 2327–2340. <http://dx.doi.org/10.3390/12102327>
- Sindhu, G., Nishanthi, E., Sharmila, R. (2015). Nephroprotective effect of vanillic acid against cisplatin induced nephrotoxicity in wistar rats: a biochemical and molecular study. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 39, 1, 392–404. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2014.12.008>
- Singh, J. C. H., Kakalij, R. M., Kshirsagar, R. P., Kumar, B. H., Komakula, S. S., Diwan, P. V. (2015). Cognitive effects of vanillic acid against streptozotocin-induced neurodegeneration in mice. *Pharm. Biol.*, 53, 5, 630–636. <http://dx.doi.org/10.3109/13880209.2014.935866>
- Szwajgier, D., Pielecki, J., Targoński, Z. (2005). Antioxidant activities of cinnamic and benzoic acid derivatives. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 4, 2, 129–142.
- Świeca, M., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., Baraniak, B. (2012). Kielki brokołu jako źródło potencjalnie bioprzyswajalnych antyoksydantów. *Bromatol. Chem. Toksykol.*, 45, 3, 488–493.
- Tai, A., Sawano, T., Ito, H. (2012). Antioxidative properties of vanillic acid esters in multiple antioxidant assays. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 76, 2, 314–318. <http://dx.doi.org/10.1271/bbb.110700>
- Tang, J.-F., Lv, X.-H., Wang, X.-L., Sun, J., Zhang, Y.-B., Yang, Y.-Sh., Gong, H.-B., Zhu, H.-L. (2012). Design, synthesis, biological evaluation and molecular modeling of novel 1,3,4-oxadiazole derivatives based on vanillic acid as potential immunosuppressive agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 20, 14, 4226–4236. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2012.05.055>
- Toaldo, I. M., Cruz, F. A., de Lima Alves, T., de Gois, J. S., Borges, D. L. G., Cunha, H. P., da Silva, E. L., Bordignon-Luiz, M. T. (2015). Bioactive potential of *Vitis labrusca* L. grape juices from the Southern Region of Brazil: phenolic and elemental composition and effect on

- lipid peroxidation in healthy subjects. *Food Chem.*, 173, 527–535. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.171>
- Velika, B., Kron, I. (2012). Antioxidant properties of benzoic acid derivatives against superoxide radical. *Free Radic. Antioxid.*, 2, 4, 62–67. <https://dx.doi.org/10.5530/ax.2012.4.11>
- Weon, J. B., Kim, Ch. Y., Yang, H. J., Ma, Ch. J. (2012). Neuroprotective compounds isolated from *Cynanchum paniculatum*. *Arch. Pharm. Res.*, 35, 4, 617–621. <https://dx.doi.org/10.1007/s12272-012-0404-4>
- Xiao, H.-H., Gao, Q.-G., Zhang, Y., Wong, K.-Ch., Dai, Y., Yao, X.-Sh., Wong, M.-S. (2014). Vanillic acid exerts oestrogen-like activities in osteoblast-like UMR 106 cells through MAP kinase (MEK/ERK)-mediated ER signaling pathway. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 144, B, 382–391. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsmb.2014.08.002>
- Zieliński, H., Achremowicz, B., Przygodzka, M. (2012). Przeciwutleniacze ziarniaków zbóż. *Żywn. Nauka Technol. Jakość*, 80, 1, 5–26.

## NOT ONLY A FLAVOUR – THE PLEIOTROPIC BIOACTIVITY OF VANILLIC ACID

### Abstract

Vanillic acid is a natural derivative of benzoic acid, commonly found in the plant world. Until recently antioxidant properties have been listed as its main bioactivity. Recently there have been numerous reports indicating a much broader range of the bioactivity of this compound, including its anti-inflammatory, antibacterial, anticancer and neuro- and nephroprotective properties. Both the results of *in vitro* and *in vivo* studies suggest that vanillic acid may be an important bioactive component present in the human diet. This study is based on an overview of available literature (featuring studies published in the last 10 years) concerning a wide range of the bioactivity of vanillic acid as well as prospects for using this compound for pharmacological purposes.

**Keywords:** vanillic acid, benzoic acid, bioactivity

*Adres do korespondencji – Corresponding address:*

Małgorzata Sieradzka, Katedra Biochemii Ogólnej, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź, Poland, e-mail: [gostia.sierl@gmail.com](mailto:gostia.sierl@gmail.com)

*Zaakceptowano do opublikowania – Accepted for publication:*

6.06.2017

*Do cytowania – For citation:*

Sieradzka, M., Kołodziejczyk-Czepas, J., Nowak, P. (2017). Nie tylko aromat – wielokierunkowa aktywność biologiczna kwasu wanilinowego. *Nauka Przyr. Technol.*, 11, 2, 169–184. <http://dx.doi.org/10.17306/J.NPT.00193>