

Mechanizmy przeciwalkoholowego działania wyciągu z korzenia *Pueraria lobata* (kudzu). Współczesne poglądy

PRZEMYSŁAW Ł. MIKOŁAJCZAK<sup>1,2\*</sup>, PRZEMYSŁAW M. MROZIKIEWICZ<sup>3,1</sup>,  
ALINA MŚCISZ<sup>1</sup>, TERESA BOBKIEWICZ-KOZŁOWSKA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Oddział Roślin Zielarskich  
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich  
ul. Libelta 27  
61-707 Poznań

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Farmakologii  
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego  
ul. Rokietnicka 5a  
60-806 Poznań

<sup>3</sup>Pracownia Farmakogenetyki Doświadczalnej  
Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji  
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego  
ul. Św. Marii Magdaleny 14  
61-861 Poznań

\*autor, do którego należy kierować korespondencję: tel.: +4861 6659550, e-mail:  
przemmik@ump.edu.pl

**Streszczenie**

W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie farmakoterapią zwiększającą skuteczność leczenia uzależnienia alkoholowego. Pojawienie się możliwości wykorzystania środków pochodzenia roślinnego, które mają zdolność obniżenia chęci picia alkoholu wydaje się obiecujące. Wiadomo, że podawanie wyciągu z korzenia ołownika łątkowatego *Pueraria lobata* (Willd) Ohwi, *Fabaceae* (kudzu) może zmniejszać spożycie alkoholu u gryzoni mających skłonność do etanolu. Opublikowano także pracę, w której stwierdzono, że wyciąg z *Puerariae radix* może być użyteczny w leczeniu pacjentów pijących alkohol „w sposób szkodliwy” (tzw. *heavy drinkers*). Należy jednak podkreślić, że mechanizmy biochemiczne i farmakologiczne leżące u podstaw działania kudzu są na razie nieznanne. Wiadomo, że zawarte w nim izoflawonoidy mogą zmniejszać objawy neurotoksycznego działania alkoholu w hipokampie i mają właściwości

neuroprotektoryjne prowadzące do zahamowania następstw doświadczalnie wywołanej ischემii. Dlatego uzasadnione są poszukiwania zmierzające do wyjaśnienia istoty działania tej rośliny na ośrodkowy układ nerwowy.

**Słowa kluczowe:** picie alkoholu z wolnego wyboru, farmakoterapia alkoholizmu, pueraryna, daidzyna

## WSTĘP

Wśród przebadanych potencjalnych leków o właściwościach zmniejszających picie alkoholu i wydłużających okres abstynencji poprzez oddziaływanie nieawersyjne obecnie za leki o udowodnionej skuteczności uważane są tylko akamprozat i naltrekson [1-3]. Należy jednak podkreślić, iż oba te środki nie mogą być stosowane we wszystkich przypadkach. Wiadomo bowiem, że skuteczność (wyrażona w procentach utrzymywanej abstynencji) podawania wielomiesięcznego (9–12 miesięcy) akamprozatu (2 g/dobę) czy naltreksonu (50 mg/dobę) sięga najwyżej 30% dla akamprozatu i ok. 60% dla naltreksonu [4]. Jest to związane z niejednorodnością (heterogennością) etiopatogenezy uzależnienia alkoholowego [1, 5-8], w której istotną rolę mogą grać czynniki środowiskowe i predyspozycje genetyczne [9-13]. Być może heterogenność alkoholizmu, związana z udziałem różnych mechanizmów neuroprzekaznikowych w danym momencie przebiegu choroby, jest przyczyną ograniczonej skuteczności stosowanej farmakoterapii tego uzależnienia [3, 14-16]. Dlatego obiecujące wydaje się pojawienie się możliwości wykorzystania środków pochodzenia roślinnego, które mają zdolność zmniejszania ilości wypijanego alkoholu [17-19].

Jednym z najbardziej interesujących surowców roślinnych, który ma zdolność wpływania na ilość wypijanego alkoholu przez zwierzęta doświadczalne, jest ołownik łatkowaty (*Pueraria lobata*), a zwłaszcza wyciąg z jego korzenia (*Radix puerariae*), powszechnie zwany kudzu [18, 20, 21].

*Pueraria lobata* (Willd) Ohwi z rodziny *Fabaceae* (ang. kudzu) jest rośliną azjatycką, rosnącą i uprawianą głównie w Chinach, Japonii i Korei. Przeniesiona została do Ameryki, Nowej Zelandii, a niedawno również do Europy. Surowcem używanym w dietetyce i terapii jest przede wszystkim korzeń, rzadziej kwiaty. Korzeń *Pueraria lobata* posiada monografię w Farmakopei Chińskiej (Pharmacopoeia of the People's Republic of China 1988). W Chinach korzeń kudzu traktowany jest jako żywność oraz materiał wyjściowy do produkcji wyciągów używanych jako składnik czynny produktów leczniczych [22].

Skład chemiczny korzenia *Pueraria lobata* jest interesujący. Główną frakcją stanowią związki izoflawonoidowe [23], a wśród nich daidzyna, daidzeina, pueraryna, genisteina, formonetyna, ononina, biochanina A [24]. Zawartość izoflawonoidów w surowcu, zależnie od miejsca pochodzenia, wynosi od 1,77 do 12% [25]. Obok izoflawonoidów w korzeniu stwierdzono obecność aglikonów i glikozydów flawonoidowych, takich jak apigenina, luteolina, kwercetyna, rutyna, hyperozyd i kwercytryna. Ponadto zidentyfikowano kwas kawowy, chlorogenowy, p-kumaryowy i ferulowy należące do grupy polifenolokwasów [26]. Inną grupą związków

naturalnych występujących w korzeniu kudzu są saponiny, głównie typu kwasu oleanolowego [27]. W surowcu zidentyfikowano; sojasapogenol A i B, kudzusapogenol A, B i C, kudzusaponiny A1, B1 i C1 oraz sophoradiol. Ponadto w korzeniu kudzu stwierdzono obecność skrobi (2–78%, średnio ok. 25%), D-mannitolu, miosterolu, kwasu bursztynowego i alantoiny, sporych ilości Ca, Mg, Fe, P i Zn oraz siedemnastu aminokwasów, również w istotnych dla diety ilościach [28].

W medycynie tradycyjnej kudzu stosowany jest w postaci naparów wodnych z sproszkowanego korzenia oraz suchych wyciągów alkoholowych.

Należy podkreślić, że dostępne wyniki badań klinicznych związane z kontrolowaniem picia alkoholu z zastosowaniem ekstraktu z samego korzenia ołownika łątkowatego są bardzo nieliczne. To raptem dwa badania kliniczne nad efektami działania kudzu, przeprowadzone w sposób poprawny metodologicznie (randomizacja, podwójnie ślepa próba). W pierwszym z nich, być może ze względu na małą liczbę pacjentów, nie dowiedziono jednoznacznie korzystnego działania kudzu [29]. W drugim badaniu stwierdzono, że wyciąg z *Puerariae radix* może być użyteczny w leczeniu pacjentów pijących alkohol „w sposób szkodliwy” (tzw. *heavy drinkers*) [30]. W badaniu przeprowadzonym na 14 ochotnikach z grupy *heavy drinkers*, przy zastosowaniu opracowanego pod kierunkiem dr. Lukasa wyciągu z kudzu (kapsułki 500 mg), stwierdzono, że po 7-dniowym podawaniu tego preparatu ilość alkoholu (w tym przypadku piwa) wypijanego przez uczestników badania zmniejsza się o ok. 40%.

Istnieją również inne przykłady stosowania kudzu z korzystnym efektem, jednakże nie mają one charakteru doniesień naukowych, co podkreślają inni autorzy [31].

Natomiast w badaniach modelowych stwierdzono jednoznacznie, że podawanie wyciągu z korzenia *Pueraria lobata* może zmniejszać picie alkoholu z wolnego wyboru tak u chomików, jak i szczurów wykazujących preferencję do picia alkoholu [20, 32-34]. W naszych badaniach [35] stwierdziliśmy, że 28-dniowe podawanie wyciągu z kudzu (500 mg/kg p.o.) szczurom preferującym picie alkoholu z wolnego wyboru powodowało zmniejszenie ilości alkoholu przyjmowanego przez zwierzęta z wolnego wyboru o 40%. Podobne efekty otrzymaliśmy w badaniach przeprowadzonych na szczurach z utrwaloną predyspozycją do picia alkoholu z wolnego wyboru (*War-saw High Preferring*, WHP) [Mikołajczak *et al.* – badania nieopublikowane].

Dotychczas uważa się, że za działanie „antyalkoholowe” kudzu odpowiedzialne są izoflawonoidy występujące w tym surowcu we względnie dużej ilości, a zwłaszcza daidzyna, daidzeina oraz pueraryna [20].

Zauważono, że po jednorazowym podaniu daidzyny (150 mg/kg, i.p.) i etanolu (1.3 g/kg, i.p) stężenie aldehydu octowego jest kilka razy wyższe niż w grupie otrzymującej tylko etanol [36]. Stwierdzono też, że powyższe działanie daidzyny wynika z jej wpływu na hamowanie metabolizmu etanolu na etapie dehydrogenazy aldehydowej (ALDH-2) (37). W badaniach *in vitro* wykazano, że daidzyna jest silnym, selektywnym i odwracalnym inhibitorem dehydrogenazy aldehydowej obecnej w mitochondriach człowieka, świnki morskiej i szczura [36, 37]. Jest to mechanizm inny niż ten obecny w disulfiranie, bowiem disulfiram jest nieodwracalnym blokerem ALDH-2 i innych izoenzymów [38]. Obecnie dokładnie scharak-

teryzowano miejsce wiążące daidzynę do miejsca aktywnego izoenzymu ALDH-2, tym samym wyjaśniając specyficzność wiązania i duży stopień powinowactwa ( $IC_{50}=80$  nM) [39].

Należy jednak podkreślić, iż ten aspekt działania kudzu jest potencjalnie niebezpieczny dla ewentualnych pacjentów podczas spożywania przez nich alkoholu. Wiadomo bowiem, że posiadanie heterozygotycznej odmiany alleli dehydrogenazy aldehydowej typu ALDH2\*1/ALDH2\*2 skutkuje zmniejszoną aktywnością tego układu enzymatycznego i może prowadzić do wzrostu poziomu aldehydu octowego [40]. Skutkiem tego może być nie tylko ryzyko wystąpienia reakcji disulfiramowej, ale – jak podkreśla się ostatnio – długotrwałe podawanie wyciągu z korzenia z *Pueraria lobata* oraz jednoczesne picie alkoholu w szkodliwych ilościach może prowadzić do zwiększonego ryzyka powstania nowotworów przełyku indukowanych przez aldehyd octowy [40]. Z drugiej strony na razie nie ma jednoznacznych doniesień na ten temat.

Uważa się zresztą, że mechanizm działania daidzyny jest związany nie tylko ze wzrostem poziomu aldehydu octowego, ale to zwiększone stężenie aldehydu octowego uczestniczy w kompetycyjnym hamowaniu metabolizmu amin katecholowych w mitochondriach, tym samym zwiększając prawdopodobieństwo powstawania tzw. aldehydów biogenych i ich produktów kondensacji, takich jak salsolinol czy tetrahydropapawerolina [20, 37]. Wykazano bowiem, że duże stężenia aldehydu octowego indukują tworzenie się salsolinolu w prądkowiu u szczura, a nie mają wpływu na poziom dopaminy czy serotoniny [41].

Przyпуска się, że tak powstający salsolinol może przekraczać barierę krew-mózg, co potwierdzono w badaniach eksperymentalnych po jego podaniu dootrzewnowym, obserwując wyraźne efekty biochemiczne i behawioralne [42-44]. Być może właśnie zwiększona ilość tych powstających związków jest odpowiedzialna za antyalkoholowy efekt daidzyny, bowiem – jak wynika z niektórych badań – istnieje związek między niską zawartością salsolinolu i silną preferencją alkoholową u szczurów typu P. Jest to przyczyna nie zawsze akceptowanego poglądu, że te zwierzęta prawdopodobnie piją więcej alkoholu by wyrównać fizjologiczne stężenia salsolinolu w jądrze półleżącym (*nucleus accumbens*) [20, 45]. Istnieją również opinie, że produkty kondensacji aldehydu octowego i dopaminy mogą być włączone w działanie układu nagrody poprzez system opioidowy. Ten efekt działania salsolinolu (związany szczególnie z wpływem S (-) enancjomeru) prowadzi do obniżenia poziomu cAMP, co może sugerować naśladowanie pobudzenia aktywności receptorów opioidowych, których deficyt stwierdzano u alkoholików [46]. Tę hipotezę potwierdzono w badaniach klinicznych, w których oznaczano zawartość enancjomerów S (-) i R (+) salsolinolu w płynach ustrojowych stwierdzając, że S (-) jest głównie obecny w moczu alkoholików [47]. Ponadto u zdrowych ochotników, u których poziomy wyjściowy salsolinolu w surowicy były niskie, wypicie alkoholu (1 g/kg m.c.) prowadziło do silnego wzrostu stężenia tego kondensatu, do czego mieliby być predysponowani genetycznie [47].

Salsolinol mógłby więc naśladować działanie nagradzające opioidów, co udowodniono w teście preferencji miejsca, znoszone przez podawanie antagonisty receptorów opioidowych – naloksonu [43], jak i wykazując właściwości salsoli-

nolu jako liganda receptorów opioidowych typu  $\mu$  [48]. Koresponduje to z poglądami mówiącymi, że podawanie kondensatów metabolitów amin katecholowych i aldehydu octowego, tj. tetrahydroizochinolin czy salsolinolu w niskich dawkach powoduje pobudzenie mechanizmów opioidowych, podczas gdy w wysokich dawkach przeważa działanie antydopaminergiczne [49]. Dlatego sugeruje się, że substancje te mogą pełnić endogenną rolę regulatorów dopaminergicznych układów, zapobiegając ich hiperaktywacji [44].

Nie jest również wykluczone, że sam salsolinol, a zwłaszcza jego aktywny enantiomer (S)-SAL, jest bezpośrednio odpowiedzialny za działanie na układ dopaminergiczny. Wiadomo bowiem, że izomer ten wiąże się z receptorem D3 – podtypem receptora dopaminergicznego D2 [50]. Pobudzenie tego receptora może być interesującym celem działania salsolinolu, jako że ten podtyp receptora dopaminergicznego wpływa na pobudzenie ruchowe oraz prawdopodobnie jest odpowiedzialny za działanie wzmacniające i nagradzające [50].

Należy jednak podkreślić, że choroby neurodegeneracyjne, w tym choroba Parkinsona czy demencja, charakteryzują się wzrostem poziomów salsolinolu w płynie mózgowo-rdzeniowym [51]. Co więcej, jeśli hipotezy związane z tworzeniem się salsolinolu czy innych kondensatów po podawaniu kudzu są prawdziwe, wówczas należy rozważyć ewentualne efekty związane z neurotoksycznością przypisywaną tym związkom szczególnie podczas długotrwałego podawania [52].

Jednakże udział daidzyny w powstawaniu salsolinolu wytwarzanego w mózgu zwierząt doświadczalnych jest niejasny, ponieważ w mózgach szczurów otrzymujących kudzu nie stwierdzono mierzalnych ilości ani daidzyny, ani pueraryny [53]. Autorzy ci przypuszczają, że izoflawonoidy te miałyby działać antyalkoholowo (zmniejszać ilość wypijanego alkoholu jak i zmniejszać symptomy zespołu odstawienia) na drodze nieznanego mechanizmu obwodowego. Jest to jednak co najmniej dziwne, bowiem pueraryna tak po podaniu domózgowym, jak i obwodowym wywołuje obniżenie temperatury u szczurów, prawdopodobnie poprzez pobudzenie receptorów 5-HT1 i/lub antagonizowanie 5-HT2A w podwzgórzu [54]. Podobnie stwierdzone efekty przeciwdrgawkowe w wywołanym eksperymentalnie zespole odstawienia u szczurów preferujących świadczy o wyraźnym ośrodkowym działaniu pueraryny [55]. Chociaż ostatnio stwierdzono, że pueraryna osiąga najwyższe stężenia w płucach szczura [56], to jednak ci sami autorzy wcześniej stwierdzili obecność pueraryny w tkance mózgowej, postulując zaangażowanie pewnych transporterów w przechodzeniu pueraryny przez barierę krew-mózg [24]. Tym samym postulaty dotyczące ośrodkowego działania pueraryny wydają się być uprawnione. Wykazano bowiem, że pueraryna (30–100 mg/kg, i.p.) ma zdolność hamowania picia alkoholu z wolnego wyboru u szczurów wykazujących preferencję do alkoholu (szczury typu P lub FH) nawet do 50% w porównaniu ze zwierzętami nie otrzymującymi tego izoflawonoidu [33, 57]. Podobne efekty otrzymaliśmy w naszych ostatnich badaniach przeprowadzonych na szczurach preferujących po 28-dniowym podawaniu pueraryny (150 mg/kg, p.o.), u których stwierdziliśmy ok. 52% zmniejszenie ilości wypijanego 10% roztworu alkoholu [Mikołajczak *et al.*, badania niepublikowane]. Można więc przypuszczać, że za działanie antyalkoholowe kudzu odpowiedzialne są również inne składniki niż daidzyna.

Istnieją pewne dowody, że niektóre efekty kudzu mogą być związane z oddziaływaniem na układy neuroprzekaźnikowe wrażliwe na działanie etanolu. Oceniając bowiem wpływ pueraryny (50–150 mg/kg, i.p.) na objawy typu lękowego w zespole odstawienia alkoholowego u szczurów w teście socjalnej interakcji stwierdzono, że związek ten miał zdolność odwracania efektów prołękowych wywołanych przez etanol, choć dokładny mechanizm tego zjawiska na razie nie jest jasny [21]. Ze względu na te właściwości anksjolityczne nie można wykluczyć, że to działanie zachodzi poprzez układ GABA i/lub serotonergiczny [21].

Interesująca jest też zdolność wpływania kudzu na ekspresję genów wczesnej odpowiedzi w hipokampie. W badaniach nad wpływem jednorazowego podania ekstraktu *Puerariae radix* szczurom otrzymującym etanol (2 g/kg, i.p.) na ekspresję genu wczesnej odpowiedzi c-Fos w regionie CA2, CA3 i zakręcie zębatym (*dentate gyrus*) hipokampu zauważono, że kudzu w dawce 30–300 mg/kg odwracało efekty hamowania wywołanego przez etanol [58]. Tym samym można sądzić, że ekstrakt *Puerariae radix* nie tylko działa antyalkoholowo przez wpływ na odruch picia z wolnego wyboru u zwierząt czy działanie anksjolityczne, ale również mógłby znosić pewne zmiany wywołane przez neurotoksyczne działanie alkoholu w hipokampie, regionie mózgu zaangażowanym m.in. w procesy pamięci i uczenia [58]. Jest to tym bardziej możliwe, ponieważ niedawno wykazano, że pueraryna posiada właściwości neuroprotektoryjne przeciwko następstwom ischemii w mózgu szczura, przez hamowanie ekscytotoksycznego działania pobudzających aminokwasów (59, 60), czy też poprzez zmniejszanie siły działania takich czynników proischemicznych jak: czynnik indukujący hipoksję typu alfa-1 (HIF-1 $\alpha$ ), czynnik martwicy nowotworów typu alfa (TNF $\alpha$ ) czy ekspresji indukcyjnej syntazy tlenu azotu (iNOS) (61).

Tak więc mechanizmy leżące u podstaw antyalkoholowego działania kudzu na ośrodkowy układ nerwowy nie są znane. Wydaje się, że możliwy jest wpływ izoflawonów i/lub powstającego salsolinolu na układ mezolimbiczny czy inne części mózgu związane z transmisją dopaminergiczną i/lub układem opioidowym. Układ dopaminergiczny, a zwłaszcza jego część mezolimbiczna jest często kojarzona z układem nagrody, który ma mieć istotne znaczenie w powstawaniu i leczeniu uzależnień, w tym alkoholizmu [49, 62].

Wydaje się również, że efekty zmniejszania spontanicznego picia alkoholu przez zwierzęta doświadczalne w wyniku podawania wyciągów z kudzu są związane nie tylko samą obecnością wyżej omawianych izoflawonoidów, ale również wpływem wyciągu *per se* na biodostępność tych substancji czynnych. Wiadomo bowiem, że stężenia daidzyny we krwi po podaniu wyciągu alkoholowego korzenia *Pueraria lobata* (150 mg, i.p. zawierającego 3,3 mg daidzyny) są dziesięciokrotnie wyższe niż stężenie po podaniu tego izoflawonoidu w dawce 6 mg tą samą drogą [63]. Za efekt ten prawdopodobnie odpowiada obecność niezidentyfikowanych składników ekstraktu wzmagających rozpuszczalność, a tym samym zwiększających dostępność daidzyny [20]. Podobnie, porównując wpływ daidzyny podawanej w postaci czystej substancji oraz ekstraktu kudzu (w przeliczeniu na ilość zawartej w nim daidzyny) na hamowanie picia alkoholu przez chomiki stwierdzono, że dawka ekstraktu potrzebna do wywołania tego samego efektu była 10 razy mniej-

sza w porównaniu z czystą substancją. Innymi słowy, ekstrakt z kudzu działał 10 razy silniej [63]. Dlatego można sądzić, że z tego powodu efekty farmakologiczne podawania wyciągów są silniejsze niż efekty stosowania samych substancji czynnych w dawkach porównywalnych z ilością zawartą w danym ekstrakcie. Takie właściwości niewątpliwie zachęcają do stosowania ekstraktów.

Reasumując, należy zauważyć, że ewentualny mechanizm odpowiedzialny za działanie „antyalkoholowe” kudzu nie jest jak dotąd dokładnie poznany. Badania nad jego dokładnym określeniem pozwolą nie tylko lepiej poznać właściwości kudzu, ale także poszerzyć wiedzę na temat przyczyn powstawania uzależnienia alkoholowego.

## PODZIĘKOWANIE

Badania były finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, projekt nr N405024 32/1684.

## PIŚMIENNICTWO

1. Lesch OM, Riegler A, Gutierrez K, Hertling I, Ramskogler K, Semler B, Zoghalmi A, Benda N, Walter H. The European acamprosate trials: Conclusions for research and therapy. *J Biomed Sci* 2001; 8:89-95.
2. Tambour S, Quertemont E. Preclinical and clinical pharmacology of alcohol dependence. *Fundam Clin Pharmacol* 2007; 21:9-28.
3. Spanagel R, Kiefer F. Drugs for relapse prevention of alcoholism: ten years of progress. *Trends Pharmacol Sci* 2008; 29 (3):109-115.
4. Rubio G, Jimenez-Arriero MA, Ponce G, Palomo T. Naltrexone versus acamprosate: one year follow-up of alcohol dependence treatment. *Alcohol Alcohol* 2001; 36:419-25.
5. Cloninger CR. Neurogenetic adaptive mechanisms in alcoholism. *Science* 1987; 236:410-16.
6. Cloninger CR, Sigvardsson S, Gilligan SB, von-Knorrning AL, Reich T, Bohman M. Genetic heterogeneity and the classification of alcoholism. *Adv Alcohol Substance Abuse* 1988; 7:3-16.
7. Cardoso JMN, Barbosa A, Ismail F, Pombo S. Neter Alcoholic Typology (NAT). *Alcohol Alcohol* 2006; 41(2):133-9.
8. Reulbach U, Biermann T, Bleich S, Hillemacher T, Kornhuber J, Sperling W. Alcoholism and homicide with respect to the classification systems of Lesch and Cloninger. *Alcohol Alcohol* 2007; 42(2):103-7.
9. Kenna GA, McGeary JE, Swift RM. Pharmacotherapy, pharmacogenomics, and the future of alcohol dependence treatment, part 1, part 2. *Am J Health Syst Pharm* 2004; 61: 2272-8, 2380-88.
10. Worst TJ, Vrana KE. Alcohol and gene expression in the central nervous system. *Alcohol Alcohol* 2005; 40:63-75.
11. Le Moal M, Koob GF. Drug addiction: Pathways to the disease and pathophysiological perspectives. *Eur Neuropsychopharmacol* 2007; 17:377-93.
12. Samochowiec J. Czynniki genetyczne w uzależnieniu alkoholowym. *Neuropsychiatria i Neuropsychologia* 2007; 2 (2):54-65.
13. Belknap JK, Metten P, Beckley EH, Crabbe JC. Multivariate analyses reveal common and drug-specific genetic influences on responses to four drugs of abuse. *Trends Pharmacol Sci* 2008; 29 (3):537-43.
14. Koob GF. Neuroadaptive mechanisms of addiction: studies on the extended amygdala. *Eur Neuropsychopharmacol* 2003; 13:442-52.
15. Addolorato G, Abenavoli L, Leggio L, Gasbarrini G. Alcoholism Treatment Study Group. How many cravings? Pharmacological aspects of craving treatment in alcohol addiction: A review. *Neuropsychobiology* 2005; 51(2):59-66.

16. Samochowiec J, Kucharska-Mazur J, Grzywacz A, Pelka-Wysiecka J, Mak M, Samochowiec A, Bienkowski P. Genetics of Lesch's typology of alcoholism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32: 423-7.
17. Xu BJ, Zheng YN, Sung CK. Natural medicines for alcoholism treatment: a review. *Drug Alcohol Rev* 2005; 24: 525-36.
18. Mikołajczak P. Postęp w badaniach nad wykorzystaniem surowców roślinnych w terapii uzależnienia alkoholowego. *Herba Pol* 2006; 52:133-45.
19. Abenavoli L, Bardazzi G., Cracolici F, Quaranta C., Santoni G., Grazioso S, Polero L, Leggio L., Addolorato G. Complementary therapies for treating alcoholism First Annual meeting by Complementary Medicine Research Group of the Italian Society for Alcohol Studies—May 5, 2006, Florence, Italy. *Fitoterapia* 2008;79:142-7.
20. Keung WM. Anti-dipsotropic isoflavones: the potential therapeutic agents for alcohol dependence. *Med Res Rev* 2003; 23:669-96.
21. Overstreet DH, Keung WM, Rezvani AH, Massi-And M, Lee DY. Herbal remedies for alcoholism promises and possible pitfalls. *Alcohol Clin Exp Res* 2003; 27:177-85.
22. Guerra MC, Speroni E, Broccoli M, Cangini M, Pasini P, Minghetti A, Crespi-Perellino N, Mirasoli M, Cantelli-Forti G, Paolini M. Comparison between Chinese medical herb *Pueraria lobata* crude extract and its main isoflavone puerarin antioxidant properties and effects on rat liver CYP-catalysed drug metabolism. *Life Sci* 2000; 67:2997-3006.
23. Wen-Shan J, Yu-Yuan T, You-Gen C, Yan W. Determination of puerarin, daidzin and daidzenin in root of *Pueraria lobata* of different origin by HPLC. *China J Chinese Mat Med* 2003, 28:49-51.
24. Prasain JK, Jones K, Brissie N, Moore R, Wyss JM, Barnes S. Identification of puerarin and its metabolites in rats by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 3708-12.
25. Libo S, Wende Z, Yanzehen H. Extraction of flavonoids in kudzu vine's roots. *Forest Res* 1996; 9:400-402.
26. Matkowski A, Woźniak D, Oszmiański J, Lamer-Zarawska E. Flavonoids of *Pueraria lobata*: chromatographic analysis of leaves and roots of cultivated plants. *Pharmazie* 2003; 58 (9):682-3.
27. Arao T, Kinjo J, Nohara Y, Isobe R. Oleane-type triterpene glycosides from *Puerariae radix*. Isolation of saponins and the application of tandem mass spectrometry to their structure determination. *Chem Pharm Bull* 1995; 43:1176-9.
28. Rubatzky VE, Chen Hang, Peron JY. Analysis and evaluation of nutritional composition in wild kudzu roots and kudzu powder from the market. ISHS (Proc.3<sup>rd</sup> IS on Diversification on Vegetable Crops). *Acta Hort* 1998; 467:65-70.
29. Shebeck J, Rindone JP. A pilot study exploring the effect of kudzu root on the drinking habits of patients with chronic alcoholism. *J Altern Complement Med* 2000; 6: 45-8.
30. Lukas SE, Penetar D, Berko J, Vicens L, Palmer C, Mallya G, Macklin EA, Lee DYW. An extract of the Chinese herbal root kudzu reduces alcohol drinking by heavy drinkers in a naturalistic setting. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29:756-62.
31. Rezvani AH, Overstreet DH, Perfumi M, Massi M. Plant derivatives in the treatment of alcohol dependency. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; 75: 593-606.
32. Keung WM, Lazo O, Kunze L, Vallee BL. Daidzin suppresses alcohol consumption by Syrian golden hamsters without blocking acetaldehyde metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:8990-93.
33. Overstreet DH, Lee Y-W, Rezvani AH, Pei Y-H, Criswell HE, Janowsky DS. Suppression of alcohol intake after administration of the Chinese herbal medicine, NPI-028, and its derivatives. *Alcohol Clin Exp Res* 1996; 20:221-7.
34. Overstreet DH, Lee DYW, Chen YT, Rezvani AH. The Chinese herbal medicine NPI-028 suppresses alcohol intake in alcohol-preferring rats and monkeys without taste aversion. *Perfusion* 1998; 11:381-90.
35. Mikołajczak PL, Kowalski R, Okulicz-Kozaryn I, Kaminska E, Szulc M, Lowicka A, Mscisz A, Bobkiewicz-Kozłowska T, Mrozikiewicz PM. Effect of subchronic *Pueraria radix* extract administration on short and long term memory in voluntary ethanol drinking rats. *Behav Pharmacol* 2007; 18 (Suppl. 1):S28-S29, 146.
36. Keung WM, Vallee BL. Daidzin and daidzein suppress free-choice ethanol intake by Syrian golden hamsters. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:10008-12.
37. Keung WM, Klyosov BL, Vallee BL. Daidzin inhibits mitochondrial aldehyde dehydrogenase and suppresses ethanol intake of Syrian golden hamsters. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:1675-9.
38. Banys P. The clinical use of disulfiram: a review. *J Psychoactive Drugs* 1998; 20:243-60.
39. Lowe ED, Gao GY, Johnson LN, Keung WM. Structure of daidzin, a naturally occurring anti-alcohol-addiction agent, in complex with human mitochondrial aldehyde dehydrogenase. *J Med Chem* 2008; 51 (15):4482-7.



40. McGregor NR. *Pueraria lobata* (Kudzu root) hangover remedies and acetaldehyde-associated neoplasm risk. *Alcohol* 2007; 41:469-78.
41. Jamal M, Ameno K, Kuboyta S, Zhang X, Kumihashi M, Ijiri I. In vivo formation of salsolinol induced by high acetaldehyde concentration in rat striatum employing microdialysis. *Alcohol* 2003; 38:197-201.
42. Naoi M, Maruyama W, Dostert P, Hashizume Y, Nakahara D, Takahashi T, Ota M. Dopamine-derived endogenous 1(R),2(N)-dimethyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, N-methyl-(R)-salsolinol, induced parkinsonian in rat: biochemical, pathological and behavioral studies. *Brain Res* 1996; 709:285-95.
43. Matsuzawa S, Suzuki T, Misawa M. Involvement of mu-opioid receptor in the salsolinol-associated place preference in rats exposed to conditioned fear stress. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24:366-72.
44. Antkiewicz-Michaluk L, Michaluk J, Romańska I, Papala I, Vetulani J. Antidopaminergic effects of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline and salsolinol. *J Neural Transm* 2000; 2107:1009-19.
45. McBride W, Li T-K, Deitrich R, Zimarkin S, Smith BR, Rodd-Henricks ZA. Involvement of acetaldehyde in alcohol addiction. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 26:114-19.
46. Putscher I, Haber H, Winkler A, Fickel J, Melzig MF. Effect of S(-) and R(+)-salsolinol on the POMC gene expression and ACTH release of an anterior pituitary cell line. *Alcohol* 1995; 12:447-52.
47. Haber H, Winkler A, Putscher I, Henklein P, Baeger I, Georgi M, Melzig MF. *Alcohol Clin Exp Res* 1996; 20:87-92.
48. Fertel RH, Greenwald JE, Schwartz R, Wong L, Bianchine J. Opiate receptor binding and analgesic effects of the tetrahydroisoquinolines salsolinol and tetrahydropapaveroline. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1980; 27:3-16.
49. Vetulani J. Uzależnienia lekowe: Mechanizmy neurobiologiczne i podstawy farmakoterapii. *Alkoholizm i Narkomania* 2001; 14:13-58.
50. Melzig MF, Putscher I, Henklein P, Haber H. In vitro pharmacological activity of the tetrahydroisoquinoline salsolinol present in products from *Theobroma cacao* L. like cocoa and chocolate. *J Ethnopharmacol* 2000; 73:153-9.
51. Antkiewicz-Michaluk L, Szczudlik A, Krygowska-Wajs A, Romańska I, Vetulani J. Increase of salsolinol level in the cerebrospinal fluid of parkinsonian patients is related to dementia: advantage of a new high-performance liquid chromatography methodology. *Biol Psychiatry* 1997; 42:514-18.
52. Antkiewicz-Michaluk L. Endogenous risk factors in Parkinson's disease: dopamine and tetrahydroisoquinolines. *Pol J Pharmacol* 2002; 54:567-72.
53. Benlhabib E, Baker JL, Keyler DE, Singh AK. Kudzu root extract suppresses voluntary intake and alcohol withdrawal symptoms in P rats receiving free access to water and alcohol. *J Med Food* 2004; 7: 168-179.
54. Chueh FS, Chang CP, Chio CC, Lin MT. Puerarin acts through brain serotonergic mechanisms to induce thermal effects. *J Pharmacol Sci* 2004; 96: 420-427.
55. Singh AK, Jiang Y, Benlhabib E, Gupta S. Herbal mixtures consisting of puerarin and either polyenylphosphatidylcholine or curcumin provide comprehensive protection against alcohol-related disorders in P rats receiving free choice water and 15% ethanol in pure water. *J Med Food* 2007; 10 (3): 526-542.
56. Prasain JK, Peng N, Moore R, Arabshahi A, Barnes S, Wyss JM. Tissue distribution of puerarin and its conjugated metabolites in rats assessed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Phytomedicine* 2009; 16 (1):65-71.
57. Lin RC, Guthrie S, Xie C-Y, Mai K, Lee DY, Lumeng L, Li T-K. Isoflavonoid compounds extracted from *Pueraria lobata* suppress alcohol preference in a pharmacogenetic rat model of alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 1996; 20:659-63.
58. Jang M-H, Shin M-C, Lee T-H, Bahn G-H, Shin H-S, Lim S, Kim E-H, Kim C-J. Effect of *Puerariae radix* on c-fos expression in hippocampus of alcohol-intoxicated juvenile rats. *Biol Pharm Bull* 2003; 26:37-40.
59. Xu X, Zhang S, Zhang L, Yan W, Zheng X. The neuroprotection of puerarin against cerebral ischemia is associated with the prevention of apoptosis in rats. *Planta Med* 2005; 71(7):585-91.
60. Xu XH, Zheng XX, Zhou Q, Li H. Inhibition of excitatory amino acid efflux contributes to protective effects of puerarin against cerebral ischemia in rats. *Biomed Environ Sci* 2007; 20(4):336-42.
61. Chang Y, Hsieh CY, Peng ZA, Yen TL, Hsiao G, Chou DS, Chen CM, Sheu JR. Neuroprotective mechanisms of puerarin in middle cerebral artery occlusion-induced brain infarction in rats. *J Biomed Sci* 2009; 16(1): 9 doi:10.1186/1423-0127-16-9.
62. Kostowski W. Podstawowe mechanizmy i teorie uzależnień. *Alkoholizm i Narkomania* 2006; 19 (2):139-68.
63. Keung WM, Lazo O, Kunze L, Vallee BL. Potentiation of the bioavailability by an extract of *Radix puerariae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 95:4284-8.

## MECHANISMS OF THE ANTIALCOHOLIC ACTIVITY OF THE PUERARIAE RADIX (KUDZU ROOT) EXTRACT. STATE OF ART

PRZEMYSŁAW Ł. MIKOŁAJCZAK<sup>1,2\*</sup>, PRZEMYSŁAW M. MROZIKIEWICZ<sup>3,1</sup>,  
ALINA MŚCISZ<sup>1</sup>, TERESA BOBKIEWICZ-KOZŁOWSKA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology and Biotechnology  
The Branch of Medicinal Plants  
Institute of Natural Fibres and Medicinal Plants  
Libelta 27  
61-707 Poznań, Poland

<sup>2</sup>Department of Pharmacology  
Poznan University of Medical Science  
Rokietnicka 5a  
60-806 Poznań, Poland

<sup>3</sup>Laboratory of Experimental Pharmacogenetics  
Department of the Clinical Pharmacy and Biopharmacy  
Poznań University of Medical Sciences  
Św. Św. Marii Magdaleny 14  
61-861 Poznań

\*corresponding author: phone: +4861 6659550, e-mail: przemmik@ump.edu.pl

### Summary

Recently, a concern for the use of pharmacotherapy in order to improve the effectiveness of alcoholism treatment has been increasing. Therefore, the interest has raised in findings in medicinal herbs effective in reducing alcohol intake. It is known that *Pueraria lobata* (Willd) Ohwi, *Fabaceae*, is involved in reducing alcohol intake in experimental animals. There is also a report that the extract from *Puerariae radix* (kudzu) may be a useful adjunct for pharmacotherapy in heavy drinkers. However, although the activity of kudzu is clearly beneficial for ethanol-treated rats, the mechanisms at the pharmacological and biochemical level still needs to be elucidated. Moreover, kudzu can lower symptoms of neurotoxic activity of ethanol in hippocampus and possesses neuroprotective effects against cerebral ischemia. Therefore, further investigation of the interactions between kudzu and ethanol in central nervous system seems to be appropriate.

**Key words:** animal voluntary ethanol intake, pharmacotherapy for alcohol dependence, puerarin, daidzin