



Mysteriet om kavas toksicitet

Vandige ekstrakter af den euforiserende plante kava har været anvendt på øer i Stillehavet gennem årtusinder uden at forårsage alvorlige bivirkninger. Men i Vesten har brug af kava medført leverskader. Hvorfor? Nye undersøgelser tyder på, at toksiciteten skyldes, at organiske opløsningsmidler har erstattet vand ved fremstilling af ekstrakterne.

Af cand.pharm. Line Olsen, ph.d.-studerende, Institut for Farmaci, dr.pharm. Steen Honoré Hansen, professor, Institut for Farmaci og Analytisk Kemi, ph.d. Claus Cornett, lektor, Institut for Farmaci og Analytisk Kemi, ph.d. Christian Skonberg, research scientist, ADME afdelingen, Novo Nordisk

Vandige ekstrakter af planten kava har været anvendt i ceremonielle sammenhænge i flere årtusinder på øer i Stillehavsregionen. Drikken har en beroligende og let euforiserende virkning, men påvirker ikke de mentale funktioner. Den traditionelle drik forekommer relativt sikker, idet den mest udbredte bivirkning er et skællat udslæt, som kaldes kava-dermopati. Men efter introduktion af produkter baseret på kava på det europæiske og amerikanske marked blev flere tilfælde af leverskader observeret. Mange af skaderne blev forbundet med indtag af kava, og produkter indeholdende kava blev derfor forbudt i en række lande, heriblandt Danmark.

Mekanismen bag levertoksiciteten er ukendt og beskrives derfor som idiosynkratisk. Dvs. at kun meget få personer rammes, og at man ikke kan påvise en sammenhæng mellem dosis og giftvirkning. Nye forskningsresultater tyder imidlertid på, at leverskaderne observeret i Vesten kan skyldes, at kava her ekstraheres i organiske opløsningsmidler frem for i vand, som

bruges på Stillehavsoerne. Desuden sandsynliggør vore resultater, at en gruppe pigment-stoffer i ekstraktet er involveret i processen.

James Cook beskrev planten

Kava eller Kava-Kava blev første gang beskrevet i litteraturen af kaptajn James Cook under hans sejlads i Stillehavsområdet fra 1768 til 1771. Ekstrakter af planten bliver anvendt i ceremonielle sammenhænge og effekten beskrives som beroligende og sammenlignes ofte med alkohol, dog uden at medføre afhængighed eller ophidselse.

På sin anden rejse i Stillehavsområdet fra 1772 til 1775 havde James Cook en ung botaniker med, Johann Georg Forster, som navngav planten *Piper methysticum*. Forster gav samtidig en udførlig beskrivelse af fremstillingsmetoden af ekstraktet. Traditionelt bliver ekstrakterne fremstillet ud fra roden, som skæres i små stykker, hvorefter stykkerne tygges – evt. af landsbyens jomfruer – og saften spytted ud i en stor skål. Her blandes saften med vand eller kokosmælk, hvorefter ekstraktet drikkes. Mere hygiejniske fremstillingsmetoder er også beskrevet, hvor roden udblødes eller knuses og sies gennem palmeblade.

Kava blev indført i Europa i løbet af det næste århundrede og blev optaget i forskellige farmakopéer, bl.a. i den britiske farmakope i 1914 til behandling af gonoré. Den dag i dag kan



man stadig blive tilbudt traditionelt fremstillede kavaekstrakter på Stillehavsøerne.

Svært at forklare giftvirkninger

Kava indeholder flere forskellige kemiske stoffer, hvoraf de mest dominerende er laktoner, som udgør 3-20% af tørret kavarod og op til 96% af et organisk ekstrakt. Laktonerne er ansvarlige for kavas beroligende effekt. Ud over laktoner indeholder planten forskellige alkaloider samt en gruppe af pigmenter, som kaldes flavokavainer. I vestlige lande fremstilles primært standardiserede organiske tørrede ekstrakter med et laktonindhold på 30-70%.

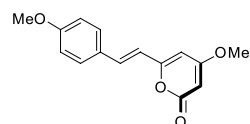
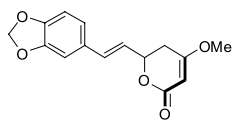
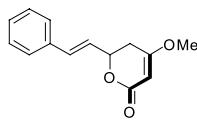
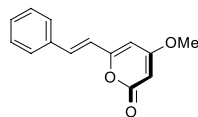
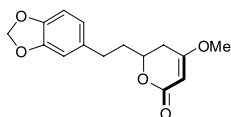
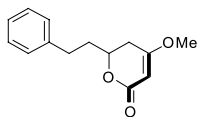
I løbet af 1990'erne steg kavas popularitet i den vestlige verden, og samtidig blev en stigning i antallet af leverskader observeret i forbindelse med indtag af ekstrakterne. Denne sammenhæng førte til et forbud mod salg af kavaprodukter i en række europæiske lande samt i Canada, og i USA mærkes alle kavaprodukter med advarsler. En større undersøgelse udført af WHO konkluderede i 2007, at der var en mulig sammenhæng mellem brug af kavaprodukter og levertoksicitet, men den konkrete årsag til leverskaderne kunne ikke fastslås, og man kunne heller ikke påvise nogen sammenhæng mellem toksicitet og dosis eller eksponeringstid. Forekomsten af leverskader blev estimeret til at være et tilfælde blandt 2500 brugere. Siden er adskillige studier blevet udført med henblik på at forklare den bagvedliggende mekanisme for toksiciteten, men til dato uden succes.

At kava har været anvendt i flere årtusinder på Stillehavsøerne uden at medføre en øget forekomst af levertoksicitet, har været et mysterium for alle involverede forskere, fordi der ikke synes at være andre forskelle på kommercielle produkter og traditionelle ekstrakter end selve fremstillingsmetoden. Vandige og organiske ekstrakter er blevet testet både i laboratorieforsøg med cellekulturer og i dyreforsøg, men uden entydige resultater. Konklusionen har i mange tilfælde været, at kavainduceret levertoksicitet er idiosynkratisk, hvilket er karakteriseret ved, at der ikke kan påvises dosisafhængighed, og at kun meget få individer rammes.

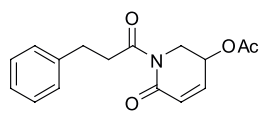
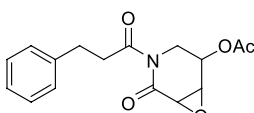
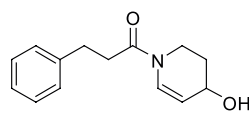


Traditionel fremstilling af et kavaekstrakt.
Øverst: Roden skæres i mindre skiver.
I midten: Skiverne findes og æltes, indtil fibrene er adskilt.
Nederst: Fibrene blandes med lidt koldt vand, og saften vrides ud. Ekstraktet er en brunlig væske.

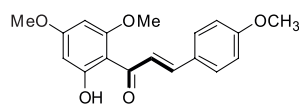
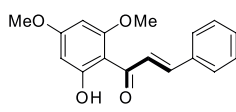
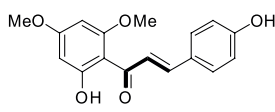
Figur 1a: Kavalaktoner

Yangonin
Molecular Weight: 258.27Methysticin
Molecular Weight: 274.27Kavain
Molecular Weight: 230.26Desmethoxyyangonin
Molecular Weight: 228.247,8-Dihydromethysticin
Molecular Weight: 276.287,8-Dihydrokavain
Molecular Weight: 232.28

Figur 1b: Kava alkaloider

Pipermethystine
Molecular Weight: 287.313α,4α-epoxy-5β-pipermethystine
Molecular Weight: 303.31Awaine
Molecular Weight: 231.29

Figur 1c: Flavokavainer

Molecular Weight: 314.33
Flavokavain AMolecular Weight: 284.31
Flavokavain BMolecular Weight: 300.31
Flavokavain C

De vigtigste indholdsstoffer i kava er kavalaktoner, alkaloider og flavokavainer. Både laktoner og flavokavainer indeholder en såkaldt α,β -umættet keton (tegnet med fede linier). Dette strukturelle element er potentielt kemisk reaktivt. Reaktive kemiske forbindelser kan være årsagen til de sjældne tilfælde af levertoksicitet, som er observeret i Vesten. Her fremstilles kavaekstrakt ved brug af organiske opløsningsmidler, og sådanne ekstrakter indeholder bl.a. flavokavainer i langt større mængder end i de traditionelle drikke på Stillehavsøerne, hvor kava ekstraheres i vand.

Idiosynkratisk toksicitet

Giftvirkninger af kava kan ikke påvises i dyremodeller. Dette kan skyldes, at mennesker og dyr omdanner lægemidler og rusmidler forskelligt i stofskiftet, så det ofte er forskellige metabolitter af et stof, som dannes i forskellige arter. Bl.a. derfor er involvering af reaktive metabolitter en udbredt teori i forklaringen af idiosynkratisk toksicitet hos mennesker ved indtagelse af kava. Hvis der dannes reaktive forbindelser i leveren, kan de reagere med leverens proteiner, hvilket kan ødelægge proteinerne funktion eller fremkalde et immunrespons.

Idiosynkratiske reaktioner har ofte ligheder med allergiske reaktioner, og det kan ikke forudsiges, hvilke personer der vil reagere. Omdannelse af indholdsstofferne i kava foregår for en stor del i leveren, som ofte er involveret ved idiosynkratisk toksicitet. En del lægemidler omdannes således til reaktive metabolitter i leveren. Et eksempel er det smertestillende stof, paracetamol, men her dannes metabolitterne dosisafhængigt, og kun når de dannes i store mængder, vil de give anledning til at levercellerne tager skade. Leverens robusthed skyldes i høj grad, at cellerne indeholder høje koncentrationer af stoffet glutathion. Glutathion kan nemlig reagere med de dannede metabolitter, før cellen bliver angrebet, og på den måde forhindre, at cellen tager skade.

Vores forskergruppe har i mange år arbejdet med at identificere og karakterisere kemisk reaktive omsætningsprodukter af lægemiddelstoffer i leveren, primært med fokus på karboxylsy-

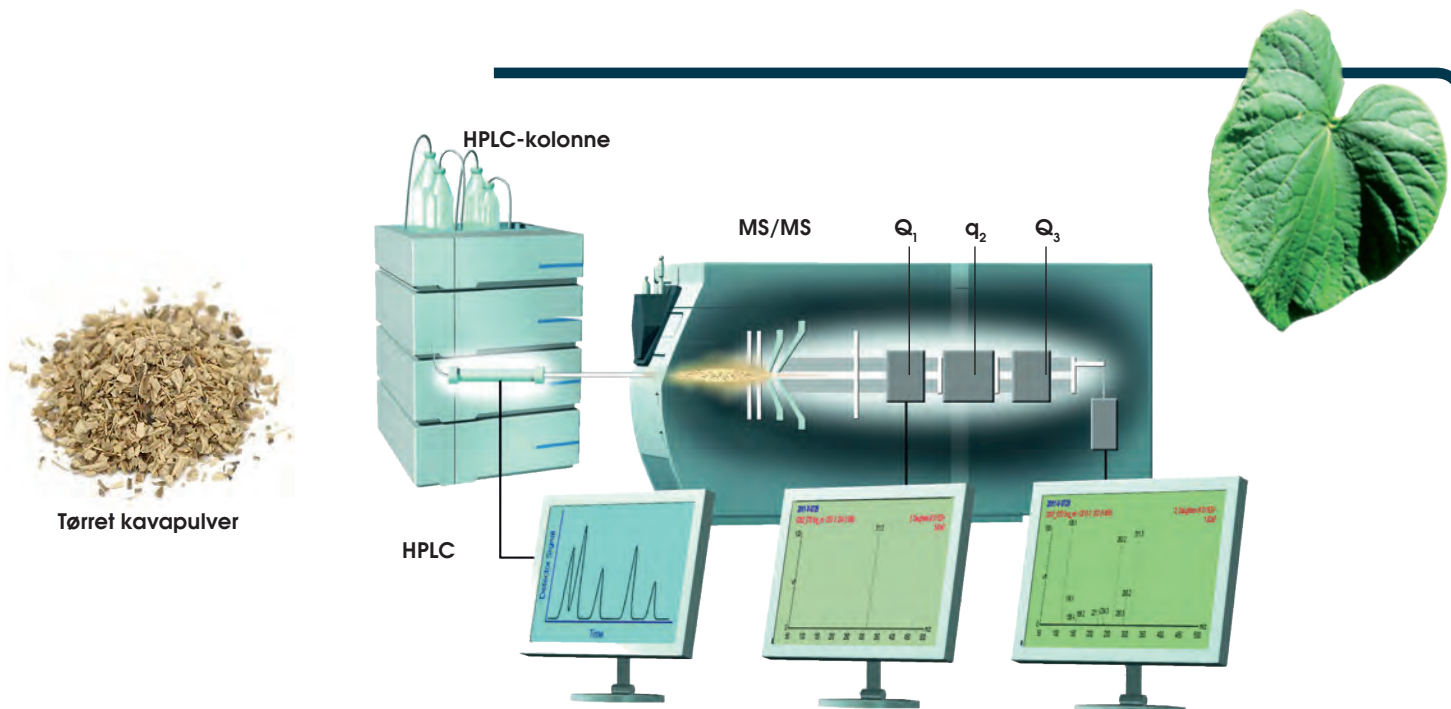
reholdige lægemidler. Det er især smertestillende medicin, de såkaldte NSAID – non steroide antiinflammatoric drugs – som kan danne reaktive acylglucuronider og acyl-Coenzym A-ader. Disse lægemidler kan reagere med såvel glutathion som proteiner i leveren. Forskningsgruppen har endvidere arbejdet med chalconer, en stofgruppe som omfatter lægemiddelkandidater mod bl.a. malaria, og som i lighed med flavokavainerne indeholder en α,β -umættet keton, der reagerer med glutathion.

Reaktive flavokavainer

Flavokavainerne og laktonerne er potentielt reaktive, fordi de indeholder en molekylær struktur, en α,β -umættet keton, som villigt indgår i kemiske reaktioner. Flavokavainerne findes kun i små mængder i kavaplanten, men pigmenterne er de mest toksiske indholdsstoffer. Nyere forskning har vist, at denne type af stoffer har potentiale som lægemidler til behandling af visse kræftformer, fordi de inducerer kontrolleret celledød. Denne effekt kan ophæves ved at behandle cellerne med *N*-acetylcystein. *N*-acetylcystein har i denne forbindelse samme beskyttende egenskaber, som glutathion har i leveren.

Opløseligheden af både laktoner og flavokavainer er meget højere i organiske opløsningsmidler som ethanol og acetone end i vand. Indholdet af flavokavainer i et standardiseret vestligt ekstrakt vil således være højere end i et vandigt ekstrakt, som

Fortsættes på side 33 ►



■ Sådan analyseres indholdsstoffer i ekstrakter

Indholdsstofferne i traditionelle og vestlige kavaekstrakter blev analyseret via en kombination af væskechromatografi og massespektrometri, som kaldes LC-MS/MS. Først adskilles de forskellige stoffer i ekstrakterne vha. højtryksvæskechromatografi (HPLC). Derpå fordampes opløsningsmidlet, og indholdsstofferne ioniseres ved at påføre dem en spænding, hvorpå de sendes ind i massespektrometret.

Ioner med et specifikt masse-ladningsforhold kan nu isoleres i massespektrometrets første kammer. I det andet kammer slås ionerne i stykker til mindre fragmenter, og i det tredje kammer kan specifikke fragmenter isoleres.

Teknikken er velegnet til at detektere konjugater, fordi man i det første kammer kan isolere ioner med et masse-ladningsforhold, som svarer til summen af de stoffer, som tilsammen udgør et givet konjugat. Efter fragmenteringen i det andet kammer kan man bestemme masse-ladningsforholdet af udgangsstofferne i det tredje kammer og derigennem vise, hvilke stoffer konjugatet blev dannet af.

Metoden kan også anvendes til at søge efter konjugater i en prøve. Hvis man f.eks. forventer, at et stof reagerer med glutathion, kan man bruge et fragment fra glutathion til at lede efter større forbindelser, som indeholder dette fragment.

© SUND-KOMM/Henning Dalhoff.

◀ Fortsat fra side 16

er fremstillet med de traditionelle metoder på Stillehavsøerne. Ydermere viser tidligere forskning, at kemiske stoffer, med strukturer der ligner flavokavainers, nedbrydes i vandige opløsninger til stoffer, som sandsynligvis ikke er reaktive. Desuden har man påvist glutathion i vandige ekstrakter af kava, men ikke i organiske ekstrakter. Evt. reaktive stoffer, der måtte ekstraheres i vand, vil derfor kunne "afgiftes" ved at reagere med co-ekstraheret glutathion.

Mistanke til organiske ekstrakter

Vi har undersøgt forskellige vandige og organiske ekstrakter af kava, og vha. væskechromatografi og massespektrometri (LC-MS/MS) har vi påvist konjugater mellem flavokavainers og glutathion, hvor de to stoffer er gået i forbindelse med hinanden. Dette bekræfter, at flavokavainerne er reaktive, i hvert fald i laboratorieforsøg.

Konjugaterne mellem flavokavainers og glutathion blev påvist

■ Artiklen er baseret på en artikel fra Lægemedelforskning 2011 fra Det Farmaceutiske Fakultet, Københavns Universitet

i tre forskellige organiske ekstrakter, mens der ikke blev fundet konjugater mellem kavalaktoner og glutathion. Mængden af flavokavainers, der blev ekstraheret i vand, var forsvindende lille sammenlignet med mængden i et organisk ekstrakt. Vores forsøg bekræfter desuden, at flavokavainerne i vandige opløsninger nedbrydes til ikke-reaktive forbindelser med en hastighed, som er signifikant hurtigere end i organiske opløsningsmidler. I organiske solventer var flavokavainerne stabile over en periode på mere end 8 timer. Disse opdagelser tyder på, at flavokavainers kan være involveret i leverskader, samt forklare årsagen til, at der ikke ses en øget forekomst af leverskader på Stillehavsøer, hvor brugen af kava er udbredt. Ved den traditionelle fremstilling af de ceremonielle drikke vil flavokavainers blive ekstraheret i meget mindre mængde, og den andel, som ekstraheres, vil blive nedbrudt i løbet af relativ kort tid.

Selvom man skulle synes, at mysteriet om kavas toksicitet nu er løst, så mangler der naturligvis yderligere studier af flavokavainerne for at bekræfte vores teori. I praksis er det dog næsten umuligt at fastslå med absolut sikkerhed, at flavokavainerne er skyld i de få tilfælde af levertoksicitet ved indtagelse af kavaekstrakter, man har observeret i de vestlige lande – netop fordi så få personer rammes.

E-mail-adresse
Line Olsen, LRO@farma.ku.dk