

Wpływ związków biologicznie czynnych zawartych w roślinach leczniczych na receptory ośrodkowego układu nerwowego – podłoże potencjalnych mechanizmów interakcji z lekami syntetycznymi. Część II

MARCIN OŻAROWSKI<sup>1,2</sup>, PRZEMYSŁAW ŁUKASZ MIKOŁAJCZAK<sup>1,3</sup>,  
TERESA BOBKIEWICZ-KOZŁOWSKA<sup>3</sup>, RADOSŁAW KUJAWSKI<sup>1</sup>,  
PRZEMYSŁAW M. MROZIKIEWICZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>InstituT Roślin i Przetworów Zielarskich  
ul. Libelta 27  
61-707 Poznań

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej i Biotechnologii Roślin  
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego  
ul. Św. Marii Magdaleny 14  
61-861 Poznań

<sup>3</sup>Katedra i Zakład Farmakologii  
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego  
ul. Rokietnicka 5a  
60-806 Poznań

\*autor, do którego należy kierować korespondencję: e-mail: mozarowski@iripz.pl

Streszczenie

*Valeriana officinalis* L. oraz *Panax ginseng* C.A. Meyer są jednymi z najbardziej interesujących roślin leczniczych oddziałujących na ośrodkowy układ nerwowy (OUN), zwłaszcza w zakresie interakcji z lekami syntetycznymi na poziomie receptorów OUN. W II części przeglądu systematycznego podsumowaliśmy najistotniejsze mechanizmy molekularne leżące u podłoża interakcji ekstraktów *V. officinalis* and *P. ginseng* oraz ich dobrze poznanych biozwiązków. Badania doświadczalne nad kwasem walerenowym wykazały, że związek ten może wchodzić w interakcje z receptorem GABA<sub>A</sub> (jako specyficzny modulator allosteryczny) i wykazał się aktywnością właściwą dla częściowych agonistów receptora 5-HT<sub>5a</sub>. Spośród innych biozwiązków izowaltrat działał tak jak odwrotni agoniści receptora A<sub>1</sub>, borneol – jak agoniści i pozytywne flumazeniloniewrażliwe modulatory allosteryczne receptora GABA<sub>A</sub>, 6-metyloapigenina – jak pozytywne modulatory receptora GABA<sub>A</sub>, ligan – częściowi agoniści receptorów adenyzytowych, a także wykazywał powinowactwo

do receptora serotonergicznego  $5HT_{1A}$  oraz  $GABA_A$ . Ginsenozydy różnorodnie działają farmakologicznie zarówno w ośrodkowym, jak i w obwodowym układzie nerwowym. Systematyczny przegląd wykazał, że ginsenozyd  $Rg_3$  oraz jego metabolit  $Rh_2$  a także metabolit ginsenozydu  $R_d$  – związek K – hamowały aktywność receptora NMDA, ginsenozyd  $Rg_3$ , przez interakcję z miejscem glicynowym na tym receptorze, a  $Rh_2$  – z miejscem wiązania poliamin. Inne badania wykazały, że  $Rg_3$  i  $Rh_2$  niekompetycyjnie hamowały aktywność receptora  $5-HT_{3A}$ , a związek  $Rg_2$  hamował aktywność cholinergicznego receptora nikotynowego (nACh) poprzez wpływ na prąd  $Na^+$  oraz aktywność kanału (aktywność właściwa dla antagonistów niekompetycyjnych). Inny ginsenozyd, Rc, najbardziej zwiększał prąd  $Cl^-$  indukowany przez GABA, natomiast ginsenozydy  $Rh_2$ ,  $Rb_1$ ,  $Rb_2$ , Rc, Re, Rf,  $Rg_1$  oraz związek K wykazały powinowactwo do receptora  $GABA_A$  (zahamowanie wiązania [ $^3H$ ]muscimolu a zwiększenie wiązania [ $^3H$ ]flunitrazepamu). Na podstawie wyników badań można stwierdzić, że dzięki interakcjom z różnymi układami receptorowymi mózgu metabolity ginsenozydów mogą okazać się istotne w terapii chorób neurodegeneracyjnych. Konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań neurochemicznych i farmakologicznych w celu dokładnego wyjaśnienia natury receptorowych mechanizmów interakcji pomiędzy lekami roślinnymi a syntetycznymi.

**Słowa kluczowe:** receptor, ośrodkowy układ nerwowy, interakcja, lek roślinny, lek syntetyczny

## Mechanizmy receptorowe leżące u podłoża interakcji związków biologicznie czynnych *Valeriana radix* z lekami syntetycznymi *in vitro*

Kozłek lekarski (*Valeriana officinalis* L.) znano i stosowano już w starożytnym Rzymie i Grecji jako uniwersalny środek o właściwościach sedatywnych. W II wieku p.n.e. Dioskurides i Galen udzielali rekomendacji dla stosowania korzeni kozłka lekarskiego w leczeniu dolegliwości przewodu pokarmowego oraz chorób układu moczowego. W XIV wieku Arabowie stosowali przetwory z kozłka lekarskiego w stanach pobudzenia i agresji [1]. Natomiast podczas I i II wojny światowej *Tinctura Valerianae* była stosowana w leczeniu szoku artyleryjskiego [2]. Obecnie na rynku farmaceutycznym przetwory z korzeni kozłka lekarskiego znajdują się zarówno w monopreparatach, jak i w wielu preparatach złożonych cieszących się dużą i rosnącą popularnością wśród osób z problemami psychoneurovegetatywnymi, głównie w stanach lękowych i bezsenności [3, 4]. Nowsze badania dowodzą, że przetwory *Valeriana radix* mają działanie cytoprotekcyjne w eksperymentalnym modelu choroby Parkinsona *in vitro* [5], a także w modelu choroby Alzheimer'a [6]. Zauważalny obecnie dynamiczny rozwój badań naukowych nad molekularnymi mechanizmami działania związków czynnych korzeni kozłka lekarskiego pozwala na coraz dokładniejsze zrozumienie natury interakcji tych biozwiązków z receptorami OUN, dając przy tym pogląd na możliwość zachodzenia interakcji na poziomie receptora z lekami syntetycznymi o takim samym (lub podobnym) farmakologicznym punkcie uchwytu działania w ośrodkowym układzie nerwowym.

Z przeglądu publikacji naukowych wynika, że pierwsze badania neurofarmakologiczne związków czynnych *Valeriana officinalis* były wykonane już przed rokiem

1995. Przeprowadzając systematyczny przegląd bibliografii, dokonano analizy większości wyników badań opublikowanych w ostatniej dekadzie, które dotyczyły oddziaływania biozwiązków kozłka lekarskiego z receptorami GABA-ergicznymi, benzodiazepinowymi, serotonergicznymi oraz receptorami adenozynowymi OUN. Badania skupiały się głównie na rozpoznawaniu mechanizmów interakcji receptorowych polarnych i niepolarnych ekstraktów *Valerianae radix* [7-16] i związków biologicznie czynnych wyizolowanych z ekstraktów różnych gatunków *Valerianae* spp., tj.: kwasu walerenowego [16-20], walerenu [17], izowaltratu [15], borneolu [21], hesperydiny [22, 23], 6-metyloapigeniny [23, 24], linaryny [25] czy lignanów [26]. Ostatnie opublikowane badania koncentrują się także na mechanizmach transportu kwasu walerenowego i jego pochodnych: kwasu acetoksywalerenowego i kwasu hydroksywalerenowego przez barierę krew-mózg [27].

### Interakcje ekstraktów *Valerianae radix*

Badanie przeprowadzone na modelu *in vitro* prawie 20 lat temu wykazało zachodzenie interakcji wodno-alkoholowego ekstraktu *Valerianae radix* z receptorami adenozynowymi pośredniczącymi w procesach hamowania aktywności mózgu szczurów. Podczas eksperymentu stosowano ekstrakt *Valerianae radix* zawierający 1,38% waltratu. Natomiast wodny ekstrakt *Valerianae radix* pozbawiony walepatriatów wywoływał jedynie słaby efekt sedatywny w podobnych warunkach [7]. Nowsze badania w tym zakresie wykazały nieco odmienną zależność.

Badania neurochemiczne przeprowadzone przez Müllera i wsp. [8] wykazały synergiczny wpływ na wiązanie radioligandów (agoniści [<sup>3</sup>H]CCPA, [<sup>3</sup>H]MSX-2) odpowiednio do receptorów adenozynowych A<sub>1</sub> oraz A<sub>2A</sub> kory mózgowej szczura i szczurzego prądkowia po podaniu ekstraktów z korzeni *Valerianae officinalis* nie zawierających walepatriatów (ekstrakt VE-1 – 0,388% kwasów walerenowych, 0,173% kwasu walerenowego, 0,215% kwasu acetoksywalerenowego; ekstrakt VE-2 – 0,370% kwasów walerenowych, 0,198% kwasu walerenowego, 0,172% kwasu acetoksywalerenowego; DER 4-6:1, 45% metanol) osobno lub w połączeniu z ekstraktem z szyszek chmielu (produkt Ze91019, producent Sigma). Badania porównawcze pozwoliły na stwierdzenie, że ekstrakty VE-1, VE-2 oraz produkt Ze91019 wykazały selektywne powinowactwo do receptorów adenozynowych typu A<sub>1</sub> (dla VE-1 wartość K<sub>i</sub>=0,15 mg/ml, dla VE-2 K<sub>i</sub>=0,19 mg/ml, dla Ze91019 K<sub>i</sub>=0,37 mg/ml w porównaniu z [<sup>3</sup>H]CCPA). Ponadto stwierdzono, że badane ekstrakty wywierały niewielki wpływ na receptory A<sub>2A</sub> (w porównaniu z [<sup>3</sup>H]MSX-2) i wykazano, że ekstrakty VE wykazały 15 razy większe powinowactwo do receptora A<sub>1</sub> (K<sub>i</sub>=0,15 mg/ml) niż do receptora A<sub>2</sub> (K<sub>i</sub>=2,20 mg/ml). Działanie ekstraktów określono jako właściwe dla częściowych agonistów receptorów adenozynowych. Wcześniejsze badania Müllera i wsp. [9] wykazały, że za powinowactwo do tego typu receptora (częściowy agonizm) odpowiadają związki chemiczne o charakterze lignanów, które wyizolowano z korzeni *Valerianae officinalis*. Mechanizm ten może być odpowiedzialny za zjawisko indukowania snu przez preparat Ze 91019, ale także

przez ekstrakty *Valerianae radix*. Wyniki badań Müllera i wsp. [8], oprócz wykazanej interakcji ekstraktów roślinnych z receptorami adenozynowymi, pozwalają na stwierdzenie zachodzenia synergizmu w działaniu receptorowym pomiędzy dwoma ekstraktami roślinnymi (z korzeni kozłka lekarskiego i szyszek chmielu), który często wykorzystywany jest w projektowaniu złożonych produktów roślinnych. Działanie ekstraktu *Valerianae radix* (Ze 911) aktywujące receptory adenozynowe typu  $A_1$  zostało potwierdzone w nowszych badaniach przeprowadzonych przez Vissiennona i wsp. [28] oraz Schellenberga i wsp. (dla ekstraktu złożonego Ze 91019) [29].

Kolejne badania, przeprowadzone przez Lacher i wsp. [15], miały na celu zbadanie wpływu ekstraktów o różnej polarności na receptory adenozynowe  $A_1$  oraz  $A_{2A}$  wobec selektywnych radioligandów (odpowiednio [ $^3H$ ]CCPA – agonista rec.  $A_1$ , [ $^3H$ ]MSX-2 – agonista rec.  $A_{2A}$ ). Stwierdzono, że przy zastosowaniu [ $^3H$ ]CCPA ekstrakty lipofilne miały wartość  $K_i$  od 7,16  $\mu\text{g/ml}$  do 516  $\mu\text{g/ml}$ , natomiast ekstrakt metanolowy –  $K_i = 139 \mu\text{g/ml}$ , a ekstrakty wodne nie wykazywały aktywności w tym zakresie. Wszystkie ekstrakty nie wykazywały lub wykazywały niskie lub średnie powinowactwo do receptora  $A_{2A}$  (hamowanie wiązania radioliganda mniejsze niż 35% w stężeniach 100  $\mu\text{g/ml}$ ). Obliczone wartości  $EC_{50}$  wobec analogu GTP ze znacznikiem radioaktywnym ([ $^{35}S$ ]GTP $\gamma$ S) wykazały, że ekstrakty lipofilne silnie hamowały wiązanie, natomiast ekstrakt metanolowy zwiększał wiązanie tego radioliganda do receptora  $A_1$  o 49%. Wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że ekstrakty polarne wykazywały aktywność właściwą dla częściowych agonistów receptora  $A_1$ , natomiast ekstrakty niepolarne wykazywały aktywność antagonistyczną lub właściwą dla odwrotnych agonistów receptora  $A_1$  [15].

Wyniki badań przeprowadzonych przez Ortiza i wsp. [13] na synaptozomach komórek kory mózgowej szczura wykazały, że w niskich stężeniach ( $EC_{50} = 4,13 \times 10^{-10} \text{ mg/ml}$ ) etanolowy ekstrakt *Valerianae radix* (1:40 v/v, 95% etanol) powodował zwiększenie wiązania [ $^3H$ ]flunitrazepamu, jednakże efekt ten nie był zaobserwowany w bardzo niskich stężeniach (rzędu  $10^{-14} - 10^{-11} \text{ mg/ml}$ ). Ponadto wykazano, że wiązanie flunitrazepamu było hamowane przy wyższych stężeniach ekstraktu (0,5 – 7,0 mg/ml;  $IC_{50} 4,82 \times 10^{-1} \text{ mg/ml}$ ). Wyniki te wskazują na występowanie dwóch biologicznie odmiennych interakcji ekstraktu *Valerianae radix* z miejscami wiązania dla [ $^3H$ ]flunitrazepamu w zależności od stężenia ekstraktu [13]. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że ten złożony efekt może być odpowiedzialny za działania anksjolityczne i sedatywne ekstraktu *in vivo*. Barnard i współpracownicy [14] wyjaśniają, że w efekcie pobudzania kompleksu  $GABA_A$  – kanał chlorkowy dochodzi na drodze hiperpolaryzacji do nasilenie procesów hamujących w neuronach, osiągając w ten sposób efekt przeciwlękowy (układ limbiczny) oraz efekt nasenny (układ siatkowaty) [14].

Inny zespół badaczy [10] wykazał, że ekstrakt z *Valerianae radix* (otrzymany w Institut für Pharmazeutische Biologie, skład: 100 g ekstraktu – 55 mg kwasów walerenowych) zwiększał wiązanie [ $^3H$ ]muscimolu do receptora  $GABA_A$ . Wykazano, że wodny oraz wodnoalkoholowy ekstrakt wiązał muscimol odpowiednio przy

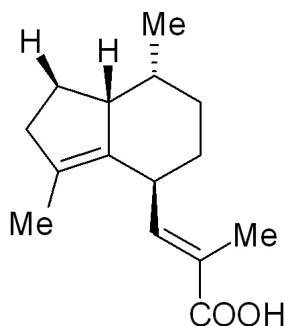
wartościach  $IC_{50} = 4,6 \times 10^{-3}$  mg/ml oraz  $IC_{50} = 4,7 \times 10^{-3}$  mg/ml. W ten sposób wykazano, że związki czynne ekstraktu (głównie kwas walerenowy) posiadają aktywność właściwą dla agonistów receptora  $GABA_A$ .

Kolejne badania Ferreira i współpracowników [11] wykazały w tym zakresie efekt zależny od rodzaju ekstraktu. Największą aktywność uwalniania  $[^3H]GABA$  z synaptozomów wykazał wodny ekstrakt (15,38% całkowitej radioaktywności) > wodnoalkoholowy ekstrakt (12,65%) > etanolowy ekstrakt (1,11%). Aktywność ekstraktu uzależniona była od zawartości w nim aminokwasów, szczególnie GABA, kwasu glutaminowego, kwasu asparaginowego, asparaginy, glutaminy oraz alaniny i argininy, których największe stężenie obecne było w wodnym ekstrakcie.

Mennini i współpracownicy [12] przeprowadzili kilkietapowe badania *in vitro* dotyczące wpływu ekstraktu z korzeni *Valeriana officinalis* (60% etanol, 1 kg suchego ekstraktu – 0,8% kwasu walerenowego), jego frakcji i niektórych związków czynnych (dihydrowaltrat) na wiązanie  $[^3H](-)$ baklofenu do receptorów  $GABA_B$  w preparatach kory mózgowej szczura. Zaobserwowano, że wszystkie badane ekstrakty oraz dihydrowaltrat wykazały tendencję do zwiększania wiązania baklofenu do receptorów  $GABA_B$ . Największą aktywność wykazał w tym zakresie dihydrowaltrat (229%) oraz lipofilny ekstrakt zawierający kwas walerenowy (157%). Na podstawie otrzymanych wyników autorzy podsumowali, że efekt ten może prowadzić do zmian we właściwościach fizyko-chemicznych błon komórkowych np. w lepkości lub do niebezpośredniej allosterycznej modulacji miejsc wiążących receptora  $GABA_B$ . Dzięki temu interakcja ta może zwiększać efekt działania baklofenu.

## Interakcje kwasu walerenowego i jego pochodnych

Z przeglądu badań fitochemicznych wynika, że surowiec *Valeriana radix* zawiera szereg związków biologicznie czynnych. Jedną z głównych frakcji bio-związków tego surowca zielarskiego są składniki olejku eterycznego, w tym kwasy seskwiterpenowe, do których należy kwas walerenowy (ryc. 1) i jego pochodne [4].



Rycina 1. Struktura chemiczna kwasu walerenowego

Badania przeprowadzone przez Khoma i wsp. [18] skupiły się na analizie molekularnych podstaw działania kwasu walerenowego, kwasu acetoksywalerenowego oraz kwasu hydroksywalerenowego na rekombinowane receptory GABA<sub>A</sub> (model oocytów *Xenopus laevis*) z 13 różnymi kombinacjami podjednostek. Jak wiadomo, jest bardzo wiele możliwych kombinacji budowy tego receptora. Wynika to z faktu, iż obecnie znamy 19 sklonowanych izoform podjednostek rec. GABA<sub>A</sub>:  $\alpha$ 1-6,  $\beta$ 1-3,  $\gamma$ 1-3,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\pi$ ,  $\rho$ 1-3,  $\theta$  kodowanych przez oddzielne geny [30]. Uzyskane wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że kwas walerenowy w stężeniu  $\geq 1 \mu\text{M}$  wykazywał pozytywny allosteryczny efekt modulacyjny poprzez zwiększanie wartości  $I_{\text{GABA}}$ . Efekt ten był zależny od stężenia kwasu walerenowego, przy czym największa stymulacja receptorów GABA<sub>A</sub> ( $\alpha_1\beta_2\gamma_{2S}$ ) następowała, gdy kwas walerenowy stosowano w stężeniach do  $100 \mu\text{M}$ . Obliczona wartość  $\text{EC}_{50}$  dla kwasu walerenowego wobec receptora GABA<sub>A</sub> złożonego z podjednostek  $\alpha_1\beta_2\gamma_{2S}$  wyniosła  $13,6 \mu\text{M}$ . Ponadto stwierdzono, że związek ten o 400% zwiększał wartość  $I_{\text{GABA}}$ . Wpływ kwasu walerenowego na wartość  $I_{\text{GABA}}$  zależny był od rodzaju kombinacji podjednostek receptora GABA (wyniki podsumowano w tab. 1).

Tabela 1.

Wpływ kwasu walerenowego na receptory GABA<sub>A</sub> w zależności od kombinacji podjednostek receptora wg Khoma i wsp. [18]

podjednostki budujące receptor GABA(A)	$\text{EC}_{50} [\mu\text{M}]$	maksymalne stymulowanie parametru $I_{\text{GABA}}$ ( $\text{EC}_{5-10}$ ) [%]
$\alpha_1\beta_2$	5,2±2,4	245,7±53,3
$\alpha_1\beta_3$	16,6±3,8	487,3±78,9
$\alpha_1\beta_2\gamma_1$	18,0±7,1	235,6±46,4
$\alpha_1\beta_2\gamma_{2S}$	13,6±4,1	400,0±77,6
$\alpha_2\beta_2$	7,2±2,6	187,4±36,8
$\alpha_2\beta_2\gamma_1$	16,8±6,4	280,5±36,1
$\alpha_2\beta_2\gamma_{2S}$	11,3±1,6	421,4±26,3
$\alpha_3\beta_2$	13,2±10,5	188,5±90,4
$\alpha_5\beta_2$	7,8±6,1	174,2±57,0
$\alpha_4\beta_2\gamma_{2S}$	2,5±2,0	68,9±14,1
$\alpha_1\beta_{1S290N}$	10,4±3,8	371,3±69,6

Dalsze badania pozwoliły stwierdzić, że stymulacja  $I_{\text{GABA}}$  przez kwas walerenowy nie była hamowana po zastosowaniu antagonisty miejsca benzodiazepinowego receptora GABA<sub>A</sub> – flumazenilu oraz nie była zależna od podjednostki  $\gamma$  tego receptora i może wynikać z bezpośredniej aktywacji receptora GABA<sub>A</sub> przez kwas walerenowy. Ponadto wykazano silną zależność modulacyjnego działania kwasu walerenowego od udziału podjednostek  $\beta$  w budowie receptora GABA<sub>A</sub> – tylko w obecności podjednostki  $\beta_2$  i  $\beta_3$  kwas walerenowy ( $1-30 \mu\text{M}$ ) stymulował receptor.



W badaniu nie wykazano modulacyjnego wpływu na receptor  $GABA_A$  dla kwasu acetoksywalerenowego oraz hydroksywalerenowego, w porównaniu z kwasem walerenowym, który kompleksowo modulował  $I_{GABA}$  i bezpośrednio aktywował kanał receptora  $GABA_A$ . Istnieje jednak konieczność przeprowadzenia dalszych badań w celu potwierdzenia obserwacji autorów świadczącej o tym, że kwas walerenowy w wyższych stężeniach ( $\geq 100 \mu M$ ) może zachowywać się podobnie do blokerów otwartego kanału receptora  $GABA_A$  [18].

Ostatnio opublikowane badania przeprowadzone przez Benkego i wsp. [17] pozwoliły na określenie specyficznych miejsc wiązania na receptorze  $GABA_A$  dla kwasu walerenowego i walerenolu. W modelu błon komórkowych neuronów mózgu szczura badano kompleksowo szeroki aspekt receptorowego działania kwasu walerenowego, który zastosowano łącznie z [ $^3H$ ]muscimolem, [ $^3H$ ]flunitrazepamem oraz [ $^3H$ ]flumazenilem. Badano również bezpośrednio interakcję kwasu walerenowego z receptorem  $GABA_A$  dzięki zastosowaniu tego związku czynnego w postaci radioligandu ([ $^3H$ ] kwas walerenowy), a także wpływ podjednostek receptora  $GABA_A$  na interakcję z kwasem walerenowym. Wykazano, że wiązanie modelowych radioligandów (muscimol, flunitrazepam, flumazenil) do receptorów  $GABA_A$  po podaniu kwasu walerenowego (koinkubacja) zwiększyło się w sposób zależny od stężenia (od 200 do 500% z wartością  $EC_{50} = 23 \pm 1, 7 \pm 1, 42 \pm 6$  mM, odpowiednio dla każdego radioliganda). Stwierdzono, że im wyższe zastosowano stężenie kwasu walerenowego, tym efektywniejsze było wiązanie radioligandów do receptorów  $GABA_A$ . Wykazano, że walerenol również zwiększał wiązanie benzodiazepin do receptorów  $GABA_A$  ( $EC_{50} = 16 \pm 7$  mM). W ten sposób stwierdzono zachodzenie allosterycznej interakcji kwasu walerenowego i walerenolu z miejscem wiązania benzodiazepin i kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego na receptorze  $GABA_A$ . W kolejnym etapie badań tych samych autorów podjęto próby weryfikacji miejsca wiązania kwasu walerenowego na receptorze  $GABA_A$ . Dzięki podaniu [ $^3H$ ]kwasu walerenowego i zastosowaniu metod immunochemicznych udało się wykazać, że ligandy charakterystyczne dla receptorowego miejsca wiązania GABA (THIP, SR95531), benzodiazepin (flunitrazepam), barbituranów (fenobarbital), a także blokery kanału jonowego (pikrotoksyna) nie wpływały na wiązanie kwasu walerenowego. Przy tym stwierdzono, że wiązanie tego związku zwiększyło się w obecności propofolu ( $680 \pm 126\%$ ), etomidatu ( $190 \pm 21\%$ ), alfaxolu ( $200 \pm 19\%$ ), przy czym każdy związek zastosowano w stężeniu do  $100 \mu M$ . Wskazało to na zachodzenie allosterycznej interakcji z miejscami wiązania dla tych anestetyków na receptorze  $GABA_A$ . Natomiast lek przeciwwzapalny – kwas mefenamowy – hamował wiązanie kwasu walerenowego do receptora  $GABA_A$  ( $IC_{50} = 7 \pm 3$  mM). Ostatni etap badania przeprowadzono na rekombinowanych receptorach  $GABA_A$  (linia komórkowa HEK293) w celu potwierdzenia interakcji allosterycznej kwasu walerenowego. Wykazano, że związek ten statystycznie istotnie zwiększał submaksymalną odpowiedź receptora  $GABA_A$  ( $EC_{10} = 3$  mM), przy tym otrzymane wartości  $EC_{50}$  były różne dla poszczególnych kombinacji podjednostek tego receptora:  $\alpha_1\beta_2\delta_2$  ( $EC_{50} = 5,6 \pm 0,6$  mM),  $\alpha_2\beta_2\delta_2$  ( $11,8 \pm 0,9$  mM),

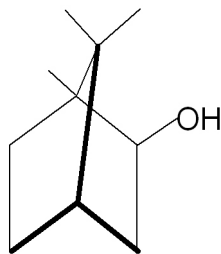
$\alpha_3\beta_2\delta_2$  ( $8,1\pm 1,3$  mM) oraz  $\alpha_5\beta_2\delta_2$  ( $8,6\pm 1,8$  mM). Ponadto stwierdzono, że mutacje punktowe podjednostek  $\beta_2$  (N265M) oraz  $\beta_3$  (N265M) rekombinowanych receptorów hamowały pobudzający efekt działania kwasu walerenowego na receptory GABA<sub>A</sub>. Na tej podstawie stwierdzono, że podjednostki  $\beta_2$  i  $\beta_3$  receptora GABA<sub>A</sub> determinują aktywność kwasu walerenowego (podobnie jak w badaniach Khoma i wsp. [18]). Na podstawie wyników wszystkich etapów badań potwierdzono, że kwas walerenowy i wykazano, że walerenol wykazują działanie właściwe dla pozytywnych modulatorów allosterycznych [17].

Z kolei badania przeprowadzone przez Dietza i wsp. [19] miały na celu określenie innych mechanizmów działania różnych ekstraktów korzeni kozłka lekarskiego (z zastosowaniem 100% i 50% metanolu, dichlorometanu [DCM] oraz eteru naftowego [PE]) oraz kwasu walerenowego w stosunku do receptorów OUN. Wyniki badań pozwoliły na stwierdzenie, że żaden ekstrakt nie wykazywał powinowactwa do receptorów melatoninergicznych, glutaminianergicznych, benzodiazepinowych oraz serotoninergicznych: 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub>. Wykazano natomiast, że mieszanina dwóch niepolarnych ekstraktów (PE/DCM, 50 µg/ml) wiązała się z receptorem 5-HT<sub>2b</sub> (51%), do 5-HT<sub>5a</sub> (80%) oraz transporterem serotoniny (53%). Po zastosowaniu tych ekstraktów oddzielnie wobec [<sup>3</sup>H] LSD stwierdzono, że ekstrakt PE (50 µg/ml) w 86% hamował wiązania dietyloamidu kwasu D-lizergowego do receptora 5-HT<sub>5a</sub> w porównaniu z 51% hamowaniem wiązania tego radiologanda po podaniu ekstraktu DCM (50 µg/ml). Wykazano również, że w obecności 100 µM GTP (agonista receptora 5-HT<sub>5a</sub>) wartość IC<sub>50</sub> dla ekstraktu PE wyniosła 11,4 µg/ml, a K<sub>i</sub>=6,88 µg/ml, co wskazało, że związki czynne zawarte w ekstrakcie PE działają tak samo jak częściowi agoniści receptora 5-HT<sub>5a</sub>. Dalsze badania fitochemiczne, po frakcjonowaniu ekstraktów PE oraz DCM, pozwoliły na zidentyfikowanie biozwiązku: kwasu walerenowego, odpowiedzialnego za zbadane nowe receptorowe podłoże działania ekstraktów. Wyizolowany kwas walerenowy wykazywał 80% powinowactwo do receptora 5-HT<sub>5a</sub>, a obliczone wartości wyniosły IC<sub>50</sub>=17,2 µM oraz K<sub>i</sub>=10,7 µM. Wysoka zawartość kwasu walerenowego w ekstrakcie PE tłumaczy większe powinowactwo tego ekstraktu do badanego receptora. Na podstawie rozpoznanego serotoninergicznego mechanizmu działania można wyjaśniać sedatywne działanie ekstraktów z korzeni kozłka lekarskiego zawierających kwas walerenowy [19].

## Interakcje borneolu

(+)borneol należy do grupy monoterypenów bicyklicznych i znajduje zastosowanie w tradycyjnej medycynie chińskiej i japońskiej jako analgetyk oraz anestetyk (ryc. 2) [21]. Związek ten wchodzi w skład olejków eterycznych wielu roślin leczniczych, w tym zidentyfikowano go w przetworach korzeni kozłka lekarskiego [3, 31]. Według *American Herbal Pharmacopoeia* [3] w olejku eterycznym korzeni kozłka lekarskiego zidentyfikowano ponad 150 związków biologicznie czynnych.



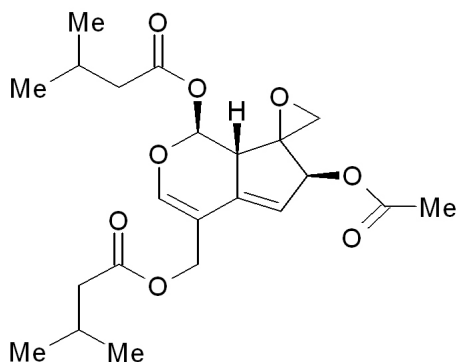


Rycina 2. Struktura chemiczna borneolu

Badania nad aktywnością dwóch enancjomerów borneolu wobec rekombinowanego ludzkiego receptora  $GABA_A$  z podjednostkami  $\alpha_1\beta_{2/2}L$  (w oocytach *Xenopus laevis*), przeprowadzone przez Grangera i wsp. [21], wykazały, że zarówno (+)borneol ( $EC_{50}=248\mu M$ ) jak i (-)borneol ( $EC_{50}=237\mu M$ ) zwiększały działanie kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego (GABA w niskich stężeniach, odpowiednio  $EC_{5-14}$  oraz  $EC_{15-24}$ ) o 1251% (po podaniu (+)borneolu) i 903% (po podaniu (-)borneolu). Przy zastosowaniu najniższych stężeń GABA ( $EC_{1-4}$ ) także wykazano zwiększanie działania GABA o 1095% (po podaniu (+)borneolu,  $EC_{50}=609,5\mu M$ ) i o 884% (po podaniu (-)borneolu,  $EC_{50}=183,6\mu M$ ) do oocytów. Dla porównania wykazano, że przy niskim stężeniu GABA ( $EC_{5-14}$ ) także izoborneol ( $EC_{50}=360\mu M$ ), octan (-)bornylu ( $EC_{50}=333,5\mu M$ ) oraz kamfora ( $EC_{50}=836\mu M$ ) zwiększały działanie GABA na rekombinowane receptory  $GABA_A$  o odpowiednio 986%, 571% oraz 377%. Wykazano również, że wraz ze zwiększaniem stężeń GABA aktywność enancjomerów borneolu słabła. W dalszych badaniach tych samych autorów z zastosowaniem flumazenilu wykazano, że zarówno (+), jak i (-)borneol nie działały w miejscu wiązania benzodiazepin na receptorze  $GABA_A$ . Flumazenil nie wpływał na działanie (+)borneolu na rekombinowane receptory  $GABA_A$  w obecności  $10\mu M$  GABA. Ponadto stwierdzono, że po podaniu (+)borneolu maksymalne odpowiedzi na GABA zwiększyły się o 19%, natomiast po podaniu (-)borneolu zmniejszyły się o 21% (podobnie po podaniu izoborneolu – o 44%). W wyższych stężeniach ( $>1,5\text{ mM}$ ) (+) oraz (-)borneol bezpośrednio aktywowały receptory  $GABA_A$  indukując odpowiednio 89% oraz 84% maksymalnej odpowiedzi receptorów na GABA (izoborneol – 51%). Stwierdzono, że enancjomery borneolu działają w sposób charakterystyczny dla częściowych agonistów receptora  $GABA_A$ . Z badań wynika również, że (+) i (-)borneol pozytywnie modulują ten receptor (pozytywny modulator allosteryczny). Działanie enancjomerów borneolu w niskim stężeniu GABA jest w tym zakresie statystycznie istotne i takie samo jak aktywność etomidatu, pentobarbitalu i propofolu, a wyższe niż działanie diazepamu oraz neurosteroidu ( $5\alpha$ -pregnan- $3\alpha$ -ol-20-on). Ze względu na niską penetrację enancjomerów borneolu przez barierę krew-mózg wyjaśniany *in vitro* receptorowy mechanizm działania monoterpenu bicyklicznego należałoby potwierdzić w modelu zwierzęcym, [21].

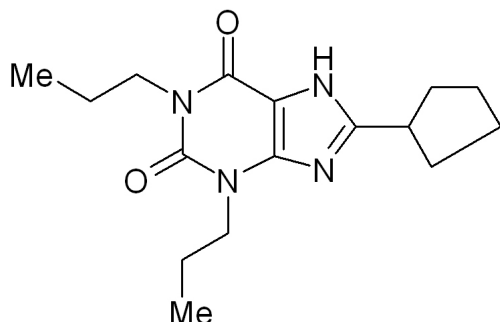
## Interakcje izowaltratu

Izowaltrat należy do grupy walepotriatów, które mają charakter triestrów o szkieletie irydooidowym i zostały odkryte w rodzinie botanicznej *Valerianaceae* przez Thiesa i wsp. w latach sześćdziesiątych [32]. Strukturę chemiczną izowaltratu przedstawia rycina 3.



Rycina 3. Struktura chemiczna izowaltratu

Badania przeprowadzone przez Lachera i wsp. [15] miały na celu zbadanie wpływu wyizolowanego izowaltratu z lipofilnego ekstraktu *Valerianae radix* (metoda opisana w pracy oryginalnej) na wiązanie radioligandów selektywnych ( $[^3\text{H}]\text{CCPA}$ ,  $[^3\text{H}]\text{MSX-2}$ ) do receptorów adenozynowych odpowiednio podtypu  $A_1$  oraz  $A_{2A}$  (model komórek CHO i neuronów kory mózgowej szczura). Wyniki badania wykazały, że izowaltrat działał jak odwrotni agoniści receptora  $A_1$ , podobnie jak związek referencyjny DPCPX (8-cyklopentylo-1,3-dipropyloksantyna). Zwrócono także uwagę na podobieństwo struktury chemicznej dwóch związków (strukturę chemiczną związku DPCPX przedstawia ryc. 4).

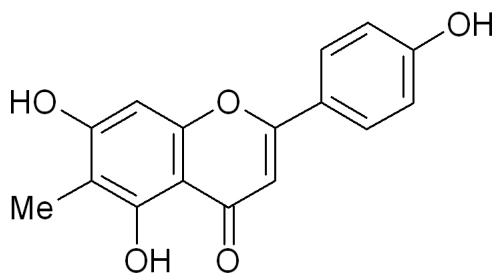


Rycina 4. Struktura chemiczna DPCPX (8-cyklopentylo-1,3-dipropyloksantyna)

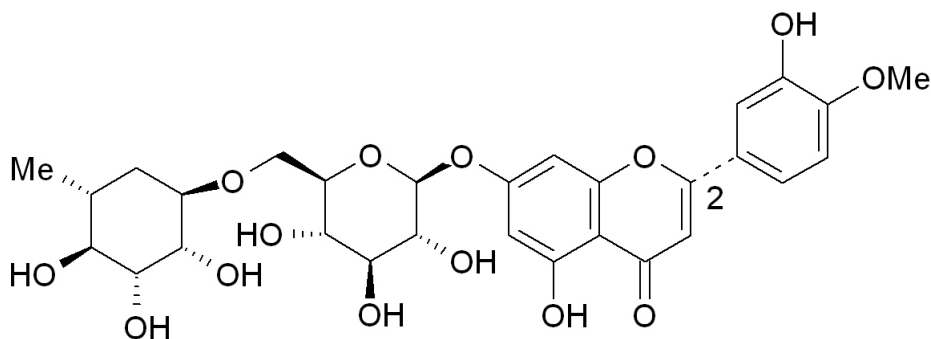
Wykazano, że izowaltrat działał silniej na receptor  $A_1$  niż na  $A_{2A}$ , a także miał większe powinowactwo do receptora  $A_1$  ( $K_1=0,865 \mu\text{g/ml} = 2,05 \mu\text{M}$ ). W badaniu z zastosowaniem analogu GTP ze znacznikiem radioaktywnym ( $[^{35}\text{S}]\text{GTP}\gamma\text{S}$  w modelu CHO) dla izowaltratu obliczono wartość  $\text{EC}_{50}=1,94 \mu\text{g/ml}$ . Ponadto stwierdzono, że związek ten o 71% hamował wiązanie  $[^3\text{H}]\text{CCPA}$  do receptorów  $A_1$  w stężeniu  $100 \mu\text{g/ml}$ . Dodatkowo w badaniach elektrofizjologicznych wykazano, że izowaltrat przynajmniej częściowo odwracał zredukowanie wartości potencjałów postsynaptycznych (PSP, ang. *postsynaptic potential*) indukowane przez agonistę receptora  $A_1$  (CPA;  $\text{N}^6$  – cyklopentyladenozyna). Z tego wynioskowano, że izowaltrat może antagonistyzować efekty działania selektywnego agonisty receptora  $A_1$  oraz że może stymulować OUN poprzez blokadę tonicznie aktywowanych receptorów  $A_1$  w mózgu [15].

### Interakcje 6-metyloapigeniny, hesperydyny i linaryny

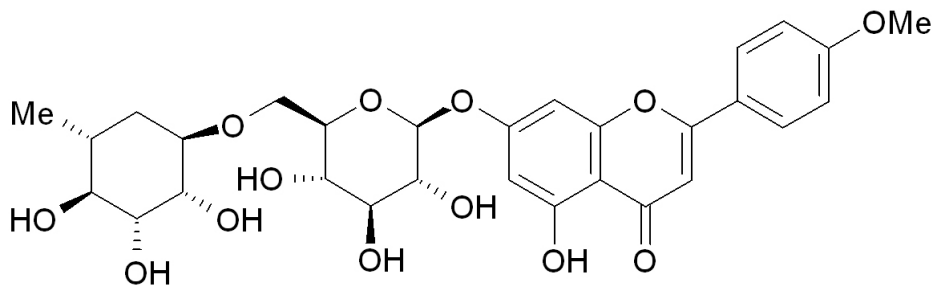
Następną grupę związków biologicznie czynnych, która została wyodrębniona w ekstraktach *Valeriana radix* (*Valeriana officinalis*), stanowi frakcja flawonoidów złożona głównie z 6-metyloapigeniny (4',5,7-dihydroksy-6-metyloflawon) (ryc. 5) [24], hesperydyny (7-rutozyd hesperetyny) (ryc. 6) [23] oraz linaryny (akacetyno- $\beta$ -rutinozyd) (ryc. 7) [4, 25] o wykazanej neuroaktywności zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* [24, 25, 33-36]. 6-metyloapigeninę po raz pierwszy wyizolowano i zidentyfikowano w kłączach i korzeniach *Valeriana wallichii* DC [24].



Rycina 5. Struktura chemiczna 6-metyloapigeniny



Rycina 6. Struktura chemiczna 2S (-) hesperydyny

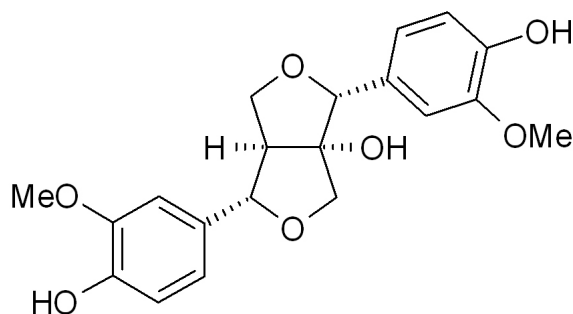


Rycina 7. Struktura chemiczna linaryny

Badania neurofarmakologiczne nad aktywnością tego flawonu przeprowadzone przez Wasowską i wsp. [24] pozwoliły na stwierdzenie, że 6-metyloapigenina miała wobec [ $^3\text{H}$ ]flunitrazepamu wartość  $K_i=0,5 \mu\text{M}$ . Wynik ten wskazał, że związek ten działał jak pozytywny modulator receptora  $\text{GABA}_A$ , wiążąc się do miejsca benzodiazepinowego tego receptora. Inne badania [33] z zastosowaniem różnych radioligandów ([ $^3\text{H}$ ]FNZ dla receptora  $\text{GABA}_A$ , [ $^3\text{H}$ ]8-OH-DPAT dla receptorów  $5\text{-HT}_{1A}$ , [ $^3\text{H}$ ]ketanseryna dla  $5\text{-HT}_2$ , [ $^3\text{H}$ ]AMPA dla receptorów glutaminianergicznych AMPA, [ $^3\text{H}$ ]CCPA dla receptorów adenozytowych  $A_1$ ) wykazały, że hesperydyna wyizolowana z ekstraktów (eter etylowy) korzeni *Valeriana officinalis* i *V. wallichii* nie wpływała na wiązanie radioligandów do badanych receptorów, chociaż w modelu zwierzęcym zmniejszała aktywność ruchową i wydłużała czas snu indukowanego tiopentalem, a efekt depresyjny był uzależniony od dawki. Wykazano również, że łączne podanie hesperydyny i 6-metyloapigeniny powoduje synergizm działania nasennego tych związków. Fernandez i wsp. [25] scharakteryzowali aktywność po raz pierwszy wyizolowanego związku czynnego – linaryny – z niepolarnego ekstraktu *Valeriana officinalis* (metoda opisana w pracy oryginalnej). Wykazano, że linaryna nie wpływała na wiązanie [ $^3\text{H}$ ]flunitrazepamu do miejsca benzodiazepinowego na receptorze  $\text{GABA}_A$ . Mechanizm wydłużania przez linarynę snu indukowanego tiopentalem w modelu zwierzęcym pozostaje nadal nie wyjaśniony.

## Interakcje lignanów

Kolejną grupą związków czynnych, na które zwrócono uwagę w badaniach mechanizmów działania farmakologicznego w ośrodkowym układzie nerwowym, są lignany – pochodne pinoresinolu (m.in. 8'-hydroksypinoresinol, 4-O- $\beta$ -D-glikozyd pinoresinolu) (ryc. 8). Osiem z nich zidentyfikowano i oznaczono w metanolowym ekstrakcie z korzeni kozłka lekarskiego [26].



Rycina 8. Struktura chemiczna pinoresinolu

Schumacher i wsp. [26] podjęli próbę określenia powinowactwa tych związków do receptorów adenyzykowych (typ  $A_1$ ,  $A_2$ ), serotonergicznych ( $5\text{-HT}_{1A}$ ) i GABA-ergicznych w modelu *in vitro*. Badania neurochemiczne z zastosowaniem selektywnych radioligandów receptorowych (CCPA dla rec.  $A_1$ , MSX-2 dla rec.  $A_2$ , [ $^3\text{H}$ ]flunitrazepam i [ $^3\text{H}$ ]BMC dla rec.  $\text{GABA}_A$ , [ $^3\text{H}$ ] 8-OH-DPAT dla rec.  $5\text{-HT}_{1A}$ ), wykazały, że tylko jeden lignan ( $4'\text{-O-}\beta\text{-D-glucosyl-9-O-(6'\text{-deoxysaccharosyl)olivil}$ ) wykazywał wyraźne powinowactwo do receptora  $A_1$ , a w mniejszym stopniu do receptora  $A_2$ . Stwierdzono, że aktywność tego związku była właściwa dla częściowych agonistów receptora  $A_1$  w niskich stężeniach mikromolarnych i submikromolarnych, oraz że struktura tego związku nie była podobna do adenyzy. Nie stwierdzono interakcji z innymi receptorami OUN dla lignanów [26]. Jednak badania przeprowadzone przez Bodesheima i wsp. [37] pozwoliły na stwierdzenie, że hydroksypinoresinol wykazywał (w zależności od stężenia) powinowactwo do receptora serotonergicznego  $5\text{-HT}_{1A}$  ( $\text{IC}_{50}=2,5\ \mu\text{mol/L}$ ). Dalsze badania [37] wykazały słabe powinowactwo pinoresinolu do receptora  $\text{GABA}_A$  oraz do receptora opioidowego  $\mu$ . Według Komisji EMEA [4] do tej pory mechanizm tego działania (agonizm/antagonizm) nie został zbadany.

W tabeli 2 podsumowano potencjalne mechanizmy interakcji receptorowych OUN przetworów i związków biologicznie czynnych *Valeriana officinalis* opisane *in vitro*.

Tabela 2.

Interakcje *Valeriana officinalis* z receptorami OUN

interakcje receptorowe dotyczące ośrodkowego układu nerwowego – model <i>in vitro</i>			
receptory	związek czynny/ekstrakt	zbadzany mechanizm i efekt interakcji	piśmiennictwo
adenozynowe	ekstrakty standaryzowane na zawartość kwasów walerenowych	→ selektywne powinowactwo do receptorów adenozynowych ( $A_1 > A_2$ ) (15 razy większe do rec. $A_1$ niż 7, 8 <sup>(*)</sup> ), 28, 29 do receptora $A_2$ ) <sup>(*)</sup>	
	ekstrakty polarne i niepolarne	→ ekstrakty polarne – aktywność właściwa dla częściowych agonistów receptora $A_1$ → ekstrakty niepolarne – aktywność antagonistyczna lub właściwa dla odwrotnych agonistów receptora $A_1$ → wszystkie ekstrakty – niskie lub średnie powinowactwo do receptora $A_{2A}$	15
	izowaltrat	→ powinowactwo do receptorów ( $A_1 > A_2$ ) aktywność właściwa dla odwrotnych agonistów receptora $A_1$	15
	lignany	→ aktywność właściwa dla częściowych agonistów receptora $A_1$	26
receptor GABA	wodny oraz wodnoalkoholowy ekstrakty standaryzowane na zawartość kwasów walerenowych	→ ↑ wiązania [ <sup>3</sup> H] muscimolu do receptora GABA <sub>A</sub>	10
	kwas walerenowy	→ pozytywna allosteryczna modulacja receptora GABA <sub>A</sub> : modulacja $I_{GABA}$ i bezpośrednia aktywacja kanału receptora GABA <sub>A</sub> (efekt zależny od stężenia kwasu walerenowego)	18
	kwas walerenowy, walerenol	→ aktywność właściwa dla pozytywnych modulatorów allosterycznych receptora GABA <sub>A</sub> → działanie związków zdeteminowane obecnością w receptorze podjednostek $\beta_2$ i $\beta_3$	17
	enanjomery borneolu	→ aktywność właściwa dla częściowych agonistów oraz dla pozytywnych, flumazenilo-niewrażliwych modulatorów allosterycznych receptora GABA <sub>A</sub>	21
	6-metyloapigenina	→ aktywność właściwa dla pozytywnych modulatorów receptora GABA <sub>A</sub>	24
	hydroksypinoresinol	→ powinowactwo do receptora GABA <sub>A</sub>	37
	ekstrakt standaryzowany na zawartość kwasu walerenowego	→ powinowactwo do receptorów GABA <sub>B</sub> (możliwa modulacja allosteryczna)	12
	dihydrowaltrat	→ powinowactwo do receptorów GABA <sub>B</sub> (możliwa allosteryczna modulacja)	12
	ekstrakty niepolarne	→ wiązanie do receptora 5-HT <sub>2b</sub> , do 5-HT <sub>5a</sub> oraz do transportera serotoniny	19
	receptory serotoninergiczne 5HT	kwas walerenowy	→ aktywność właściwa dla częściowych agonistów receptora 5-HT <sub>5a</sub>
	hydroksypinoresinol	→ powinowactwo do receptora 5HT <sub>1A</sub> (zależnie od stężenia)	37
receptory opioidowe $\mu$	pinoresinol	→ powinowactwo do receptora opioidowego $\mu$ (zależnie od stężenia)	37

[<sup>(\*)</sup>] – oznaczenia zamieszczone przy nazwiskach autorów odnoszą się do wyników ich badań cytowanych w tabeli]



## Interakcje receptorowe ekstraktów i związków czynnych *Valerianae radix* z lekami syntetycznymi zbadane w modelu zwierzęcym

Efekty farmakologiczne interakcji receptorowych pomiędzy ekstraktem *Valeriana officinalis* oraz lekami syntetycznymi o działaniu ośrodkowym są udokumentowane badaniami przeprowadzonymi w modelu zwierzęcym. Badania licznych autorów [20, 38-40] wykazały, że związki biologicznie czynne *Valerianae radix* wzmacniały efekt sedatywny po łącznym podaniu z barbituranami.

W badaniu przeprowadzonym na myszach, którym podawano wyizolowany z ekstraktu kwas walerenowy (50 mg/kg oraz 100 mg/kg, i.p.) Hendriks [20] wykazał, że związek ten istotnie wydłużał sen indukowany pentobarbitem (60 mg/kg, i.p.). Zaobserwowano wydłużenie snu o 50 min (do 145 min), natomiast po dawce 100 mg/kg – o 100 min (do 195 min) w porównaniu z grupą kontrolną, której podano sam pentobarbital w tej samej dawce (95 min). W 1985 r. autorzy byli zdania, że efekt ten jest wywołany przez różne interakcje, tak farmakokinetyczne, jak i farmakodynamiczne [20, 38]. Badania przeprowadzone w późniejszych latach pozwoliły na stwierdzenie, że ekstrakt *Valerianae radix* oddziałuje na receptory GABA-ergiczne w sposób właściwy dla agonistów, w związku z czym interakcja pomiędzy związkami czynnymi ekstraktu a pentobarbitem może mieć charakter synergizmu o charakterze receptorowym.

Badania przeprowadzone przez Sakamoto i wsp. [39] miały na celu wykazanie wpływu ekstraktu z korzeni japońskiego gatunku waleriany (30% ekstrakt etanolowy) na czas snu indukowanego heksobarbitem. Zwierzętom dożołądkowo podawano ekstrakt etanolowy (2,8–11,2 g/kg), a otrzymane wyniki porównano z grupą przyjmującą diazepam (3 mg/kg, p.o.). Wykazano, że w zależności od dawki ekstrakt wyraźnie wydłużył efekt działania heksobarbitalu. Wykazano także, że po podaniu ekstraktu z waleriany w dawce 2,8 g/kg (30 min po podaniu 100 mg/kg heksobarbitalu, i.p.) czas trwania snu wyniósł  $42,6 \pm 7,2$  min, po dawce ekstraktu 5,6 g/kg –  $48,3 \pm 9,9$  min, natomiast po podaniu dawki ekstraktu 11,2 g/kg –  $85,8 \pm 6,1$  min (w porównaniu z efektem zaobserwowanym po 3 mg/kg diazepamu –  $73,8 \pm 8,8$  min oraz grupą kontrolną (*vehicle* –  $34,3 \pm 6,2$  min)). Ponadto wykazano, że ekstrakt z korzenia waleriany (11,2 g/kg, p.o.) podobnie jak imipramina (20 mg/kg, p.o.) odwracał hipotermię indukowaną rezerpiną (5 mg/kg, i.p.), co może wskazywać na antydepresyjne działanie ekstraktu. Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że możliwe są dwie interakcje farmakodynamiczne ekstraktu z korzeni waleriany: z heksobarbitem (efekt synergiczny) oraz z rezerpiną (efekt antagonistyczny).

Inni autorzy [40] potwierdzili zachodzenie interakcji pomiędzy ekstraktem z *Valerianae radix* (w produkcie Valdispert®, standaryzacja na zawartość kwasu walerenowego, DER 5-6:1) (2, 10, 20, 200 mg/kg m.c., p.o.) a tiopentalem (52,5 mg/kg, i.v.) w badaniach na myszach. Wyniki wykazały wydłużanie czasu narkozy w zależności od dawki: po podaniu 2 mg/kg ekstraktu zaobserwowano efekt 1,6 raza większy, natomiast po dawce 200 mg/kg ekstraktu – 7,6 raza większy (efekt synergiczny) w porównaniu z kontrolą, przy czym chlorpromazyna (4 mg/kg, p.o.) wydłużała czas narkozy tylko 4,7-krotnie. Ponadto wykazano wpływ ekstraktu

*Valerianae radix* na efekt toksyczny indukowany pentetrazolem (0,2 ml z 5 mg pentetrazolu/ml wody iniekcyjnej, i.v.). Podanie zwierzętom ekstraktu w dawce 500 mg/kg p.o. spowodowało przedłużenie czasu hamowania drgawek indukowanych pentetrazolem o ok. 1 min w porównaniu z kontrolą.

Inny zespół badaczy [41] także przeprowadził kilkietapowe badania wpływu etanolowego ekstraktu z korzeni *Valeriana officinalis* (70% etanol) na działanie tiopentalu oraz pikrotoksyny. W pierwszym etapie eksperymentu wykazano, że podawanie myszom etanolowego ekstraktu *Valerianae radix* śródtrzewnowo (i.p.) w pojedynczych dawkach 12,5 mg/kg oraz 100 mg/kg po iniekcji tiopentalu (25 mg/kg, i.v.) wydłużało czas trwania znieczulenia w porównaniu z grupą kontrolną (laktatoza 25 mg/kg). Statystycznie istotnie działała tylko dawka 100 mg/kg ekstraktu ( $p < 0,05$ ). Podłożem tego efektu mogła być interakcja (o charakterze synergizmu) związków czynnych ekstraktu z miejscem wiązania barbituranów w kompleksie receptora GABA<sub>A</sub> – benzodiazepinowego. W drugim etapie, podczas obserwacji wpływu ekstraktu *Valerianae radix* (100, 200, 400 mg/kg i.p.) u myszy z drgawkami wywołanymi pikrotoksyną (PTZ, 3 mg/kg i.v.), nie wykazano antagonistycznej aktywności ekstraktu w stosunku do tego związku chemicznego. Wyniki uzyskane przez Leuschnera [40] pokazały jednak, że ekstrakt standaryzowany na zawartość kwasu walerenowego słabo działał przeciwdrgawkowo. Ponadto inne badania [42] potwierdziły, że ekstrakt *Valerianae radix* działał antypentetrazolowo. Różnice w wynikach próbowano uzasadnić brakiem walepotriatów w ekstrakcie badanym przez Hillera i wsp. [41]. Z tego mogłoby wynikać, że ekstrakt zawierający walepotriaty działa przeciwdrgawkowo. Jednak nie potwierdziło się to w badaniach, tym bardziej że wykazano nietrwałość frakcji walepotriatów i małą prawdopodobność ich występowania w końcowym produkcie zielarskim [43, 44]. Działanie przeciwdrgawkowe ekstraktów na bazie *Valeriana officinalis* oraz antagonizm w stosunku do pentetrazolu nie został więc do końca wyjaśniony. Interakcje farmakodynamiczne *Valeriana officinalis* w modelu zwierzęcym podsumowano w tabeli 3.

## Mechanizmy receptorowe leżące u podłoża interakcji *Panax ginseng* z lekami syntetycznymi

*Panax ginseng radix* jest stosowany jako środek tonizujący, wzmacniający w stanach zmęczenia i osłabienia, zmniejszonej wydajności i osłabienia funkcji mózgowych oraz w rekonwalescencji. Oprócz wpływu na wydolność fizjologiczną organizmu surowiec zawiera związki, które działają kierunkowo immunomodulująco, obniżają zwiększony poziom cukru we krwi (działanie antydiabetyczne), poprawiają funkcje wątroby, regulują ciśnienie krwi, zmniejszają nasilenie objawów klimakterium, przywracają osłabione funkcje seksualne, a także zapobiegają chorobom nowotworowym, o czym świadczą liczne badania farmakologiczne *in vitro* i *in vivo*, jak i również wyniki badań klinicznych [45-51]. W ostatnim czasie pojawia się coraz więcej dowodów na neuroprotektoryjne działanie biozwiązków

korzeni *Panax ginseng* w różnych modelach doświadczalnych [52-59]. Obserwacje te zostały potwierdzone już w pierwszych badaniach klinicznych, obejmujących pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą Alzheimera [60, 61].

Tabela 3.

Interakcje farmakodynamiczne *Valeriana officinalis in vitro* i w modelu zwierzęcym dotyczące ośrodkowego układu nerwowego

interakcje farmakodynamiczne dotyczące ośrodkowego układu nerwowego			
związek chemiczny	związek czynny/ekstrakt	zbadany efekt interakcji	bibliografia
pentobarbital (60 mg/kg, i.p.)	kwas walerenowy (50 mg/kg oraz 100 mg/kg, i.p.)	→ po podaniu 50 mg/kg – wydłużenie czasu snu o 50 minut, po dawce 100 mg/kg – o 100 minut	20
heksobarbital (100 mg/kg, i.p.)	wodnoetanolowy ekstrakt (gatunek japoński waleriany (2,8; 5,6; 11,2 g/kg, p.o.)	→ wydłużenie efektu działania heksobarbitalu (po dawce ekstraktu 11,2 g/kg większy efekt w porównaniu z diazepamem w dawce 3 mg/kg)	39
tiopental (52,5 mg/kg, i.v.)	wodny ekstrakt (Valdispert®) (2, 10, 20, 200 mg/kg, p.o.)	→ wydłużanie czasu narkozy w zależności od dawki, po 2 mg/kg ekstraktu - efekt o 1,6 razy większy, po dawce 200 mg/kg ekstraktu – o 7,6 razy większy w porównaniu z kontrolą	41
pentetrazol (0,02 ml; roztwór 5 mg/1 ml wody, i.v.)	wodny ekstrakt (Valdispert®) (500 mg/kg, p.o.)	→ opóźnienie czasu pojawienia się drgawek indukowanych pentetrazolem o ok. 1 minutę w porównaniu z kontrolą	41
pikrotoksyna (3 mg/kg i.v.)	etanolowy ekstrakt (100, 200, 400 mg/kg, i.p.)	→ brak działania przeciwdrgawkowego	40
tiopental (25 mg/kg, i.v.)	etanolowy ekstrakt (12,5 mg/kg, 100 mg/kg, i.p.)	→ wydłużenie czasu trwania znieczulenia	40

Za działanie ekstraktów korzeni żeń-szenia odpowiedzialna jest głównie frakcja ginsenozydów (pochodne protopanaxsodiolu i protopanaxatriolu; od 0,7% do 3% [62]), w obrębie której zidentyfikowano 38 saponin triterpenowych [47]. Natomiast głównymi niesaponinowymi związkami korzeni *Panax ginseng* są polisacharydy, związki fenolowe i pochodne polietylenu [47].

Z przeglądu badań wynika, że coraz więcej uwagi poświęca się wyjaśnianiu receptorowych mechanizmów działania ginsenozydów i ich metabolitów na ośrodkowy układ nerwowy [63]. Wykazano, że związki te oddziałują na receptory glutaminianergiczne NMDA [64-68], glicynowe [69, 70], GABA-ergiczne [71], serotoninerdyczne [72-75], cholinergiczne receptory nikotynowe [76, 77] oraz receptory dopaminergiczne (DA) [78-81].

W doświadczeniu przeprowadzonym przez Kim i wsp. [64] badano wpływ ginsenozydów na ekspresję mRNA dla podtypów receptora NMDA (NR1, NR2A, NR2B, NR2C) po ich infuzyjnym podaniu do komory mózgu szczura. Wykazano, że poziom mRNA dla podtypu NR1 receptora NMDA zwiększył się znacznie w korze mózgowej płata skroniowego, w skorupie jądra ogoniastego (*caudate putamen*) oraz w warstwie ziarnistej mózdzku szczurów poddanych infuzji ginsenozydu Rg<sub>1</sub>

(10  $\mu\text{g/h}$  przez 7 dni) w porównaniu z grupą kontrolną. Nie zaobserwowano zmian w ekspresji mRNA dla podtypu NR1 oraz NR2A po infuzyjnym podaniu ginsenozydu Rc. Natomiast zwiększoną ekspresję mRNA dla NR2B zaobserwowano w korze mózговой płata skroniowego, w skorupie jądra ogoniastego oraz w komórkach wzgórza po infuzji Rc, a także Rg<sub>1</sub>. Zaobserwowano również, że po podaniu Rg<sub>1</sub> obniżyła się ekspresja dla podtypu NR2B w rejonie CA3 hipokampu. Poziom mRNA dla NR2C zwiększył się w warstwie ziarnistej mózdzku tylko po podaniu Rg<sub>1</sub>. Wyniki te wskazują, że ginsenozydy o odmiennej strukturze chemicznej różnią się pod względem działania modulującego ekspresję mRNA dla podtypów receptora NMDA po ich podaniu infuzyjnym do komory mózговой szczura. Ten sam zespół badaczy [65] przeprowadził badania modulacyjnego wpływu ginsenozydów Rc oraz Rg<sub>1</sub> na wiązanie ligandu do receptora NMDA w mózgu szczura. Wykazano, że infuzyjne podanie badanych związków szczurom (10  $\mu\text{g}/10\mu\text{l/h}$ , i.c.v.) istotnie zmniejszało wiązanie znakowanego radioaktywnie [(3)H]MK-801 antagonisty receptora NMDA w płacie ciemieniowym kory mózговой szczura.

Kolejne badania Kim i wsp. [66] dowiodły, że frakcja ginsenozydów *Panax ginseng* hamowała indukcję receptora NMDA w kulturze neuronów hipokampu oraz wykazała hamujący (70,2%) wpływ na zwiększony poziomu wapnia w komórce po indukcji glutaminianem. Ponadto Kim i współpracownicy [67] wykazali, że łączne podawanie ginsenozydu Rg<sub>3</sub> wraz z NMDA do kultury neuronów hipokampa nie zmieniało powinowactwa NMDA do receptora (wartość EC<sub>50</sub> bez zmiany), z czego wynika, że ginsenozyd Rg<sub>3</sub> hamował aktywność receptora NMDA bez kompetycyjnego wiązania do miejsca wiążącego NMDA. Wykazano natomiast, że ginsenozyd Rg<sub>3</sub> wchodził w interakcje z miejscem wiązania glicyny w receptorze NMDA oraz że związek ten działał na neurony, chroniąc je przed uszkodzeniami spowodowanymi pobudzeniem NMDA. Nowsze badania [69] wykazały, że ginsenozyd Rg<sub>3</sub> działał tak jak niekompetyjni antagoniści receptorów glicynowych i hamował strychnino-wrażliwy prąd glicynowy (I<sub>gly</sub>) w obecności glicyny. Przy czym inne doświadczenie wykazało, że 7 ginsenozydów (Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub>, Rc, Rf, Rg<sub>1</sub>, Re) zwiększało wewnętrzny prąd receptorów glicynowych  $\alpha_1$  [70].

Z ostatnich badań wynika [68], że ginsenozydy i ich metabolity mogą oddziaływać na aktywność neuronów w mózgu szczura poprzez różne miejsca w receptorze NMDA. W badaniach *in vitro* przy użyciu kultur komórek hipokampu stwierdzono bowiem, iż ginsenozyd Rg<sub>3</sub> działał hamująco poprzez miejsce glicynowe receptora NMDA, podczas gdy metabolit ginsenozydu Rg<sub>3</sub> – ginsenozyd Rh<sub>2</sub> – działał jako kompetycyjny inhibitor miejsca poliaminowego tego receptora. Autorzy tej pracy sugerują, że szczególnie ten ostatni związek może znaleźć zastosowanie w prewencji chorób neurodegeneracyjnych.

Inne badanie, przeprowadzone przez Choi i wsp. [72], miało na celu wykazanie wpływu ginsenozydu Rg<sub>2</sub> na aktywność receptora serotoninergicznego 5-HT<sub>3A</sub> (model oocytów *Xenopus*). Wykazano, że Rg<sub>2</sub> hamował wartość I<sub>5-HT</sub> i efekt ten był zależny od stężenia ginsenozydu, odwracalny, niekompetycyjny i niezależny od napięcia (IC<sub>50</sub> = 22,3 ± 4,6  $\mu\text{M}$ ). Późniejsze badania [74] wykazały, że także ginse-

nozyd  $Rg_3$  hamował prąd indukowany serotonina (5-HT) w stosunku do receptora  $5-HT_{3A}$  ( $IC_{50} = 27,6 \pm 4,3 \mu M$ , niepompetycyjnie, zależnie od stężenia  $Rg_3$ ), ale słabiej w porównaniu z ginsenozydem  $Rg_2$ . Ponadto wykazano, że mutacje transmembranowej domeny 2 receptora ( $TM_2$ ) zmieniały aktywność ginsenozydu  $Rg_3$ , przy czym mutacja V291A powodowała zwiększenie wartości  $IC_{50}$  ( $72,4 \pm 23,1 \mu M$ ). Na podstawie wyników stwierdzono, że ginsenozyd  $Rg_3$  hamował aktywność kanału receptora  $5-HT_{3A}$  na drodze interakcji z resztami V291, F292 oraz I295 regionu  $TM_2$  na receptorze. Kolejne badanie tego zespołu [75] pozwoliło na stwierdzenie, że efekt hamowania aktywności receptora  $5-HT_{3A}$  zależny jest od struktury stereoisomerycznej ginsenozydów. Stwierdzono, że  $20(S)-Rg_3$  w porównaniu z  $20(R)-Rg_3$  silniej hamował  $I_{5-HT}$ . Kolejni badacze [73] zwrócili uwagę na aktywność receptorową metabolitów ginsenozydowych: związku K (pochodna protopanaksadiolu) oraz M4 (pochodna protopanaksatriolu). Stwierdzono, że podanie związku K oraz M4 do kultury oocytów *Xenopus* prowadziło do hamowania prądu indukowanego 5-HT, a wartość  $IC_{50}$  dla związku K oraz M4 wyniosła odpowiednio  $36,9 \pm 9,6 \mu M$  oraz  $7,3 \pm 9,6 \mu M$ . Aktywność M4 w tym zakresie była niekompetycyjna i niezależna od napięcia. Tak więc zarówno ginsenozydy, jak i ich metabolity mogą wpływać na aktywność kanału receptora  $5-HT_{3A}$ .

Sala i wsp. [76] przeprowadzili badania wpływu ginsenozydu  $Rg_2$  na ludzkie nikotynowe receptory cholinergiczne typu neuronalnego (nAChR). Badaniami neurochemicznymi objęto kilka podjednostek receptora nAChR ( $\alpha_7$ ,  $\alpha_3$ ,  $\alpha_4$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_4$ ) ze względu na to, że receptor ten może być zbudowany z różnych kombinacji podjednostek (w mózgu najliczniej występują heteromery o składzie  $2\alpha_4$ ,  $3\beta_2$  oraz homomery  $\alpha_7$ ). W wyniku przeprowadzenia doświadczeń elektrofizjologicznych wykazano, że łączne podawanie  $100 \mu M$  ginsenozydu  $Rg_2$  i  $1 mM$  acetylocholino redukowało maksymalne natężenie prądu we wszystkich receptorach heteromerycznych z wyjątkiem receptora homomerycznego  $\alpha_7$  (efekt podobny do  $\omega$ -konotoksyny, diltiazemu, brak zależności efektu od stężenia). Ponadto zaobserwowano efekt desensytyzacji heteromerycznych receptorów nACh po podaniu ginsenozydu  $Rg_2$  w zależności od stężenia. Na podstawie tych obserwacji (zmniejszenie maksymalnego natężenia prądu, zwiększenie desensytyzacji) wywnioskowano, że przy dużym stężeniu acetylocholino ginsenozyd  $Rg_2$  działał podobnie do niekompetycyjnych antagonistów receptora nACh.

Inne badanie przeprowadzone przez Choi i wsp. [77] na modelu rekombinowanych nikotynowych receptorów cholinergicznych typu neuronalnego (nAChR) wykazało, że łączne podawanie do kultury oocytów *Xenopus* acetylocholino i ginsenozydu  $Rg_2$  hamowało wartość  $I_{ACh}$  w populacji receptorów z podjednostkami  $\alpha_3\beta_4$  lub  $\alpha\beta\delta\epsilon$ , natomiast nie wykazano wpływu na receptory z podjednostkami  $\alpha_7$ . Wpływ ginsenozydu  $Rg_2$  na  $I_{ACh}$  był odwracalny, zależny od stężenia ginsenozydu oraz niezależny od napięcia i niekompetycyjny. Wartość  $IC_{50} = 60,2 \pm 14,1$  i  $15,7 \pm 3,5 \mu M$  odpowiednio dla receptorów z podjednostkami  $\alpha_3\beta_4$  i  $\alpha\beta\delta\epsilon$ . Na podstawie wyników uporządkowano również inne ginsenozydy ze względu na siłę hamowania  $I_{ACh}$  receptorów nACh z podjednostkami  $\alpha_3\beta_4$ :  $Rg_2 > Rf > Re > Rg_1 > Rc > Rb_2 > Rb_1$



oraz receptorów nACh z podjednostkami  $\alpha\beta\delta\epsilon$ :  $Rg_2 > Rf > Rg_1 > Re > Rb_1 > Rc > Rb_2$ .

Praca innego zespołu badaczy [71] skupiła się na badaniu interakcji całkowitej frakcji saponin triterpenowych oraz pojedynczych ginsenozydów (Re, Rf) *Panax ginseng* z receptorami GABA-ergicznymi. Badania przeprowadzone na synaptozomach kory mózgowej szczura (z płata czołowego) wykazały, że całkowita frakcja saponin (10  $\mu\text{g/ml}$ ) istotnie zmniejszała powinowactwo i specyficzne wiązanie kompetycyjnego agonisty [ $^3\text{H}$ ]muscimolu ze znacznikiem radioaktywnym do receptora  $\text{GABA}_A$  (bez zmiany  $B_{\text{max}}$ ) oraz że pojedyncze ginsenozydy (2,5 nM) hamowały wysokie powinowactwo tego związku. Wykazano przy tym, że ginsenozyd  $\text{Rb}_2$  (100  $\mu\text{M}$ ) zmniejszał wysokie specyficzne wiązanie [ $^3\text{H}$ ]muscimolu do 38%. Hamowanie wiązania muscimolu do receptora  $\text{GABA}_A$  wykazały również ginsenozydy  $\text{Rb}_1$ , Rc, Re, Rf,  $\text{Rg}_1$  (100  $\mu\text{M}$ ). Wykazano także, że całkowita frakcja saponin zwiększała powinowactwo benzodiazepinowego agonisty [ $^3\text{H}$ ]flunitrazepamu do receptora  $\text{GABA}_A$ , natomiast zmniejszała powinowactwo niekompetycyjnego antagonisty [ $^{35}\text{S}$ ]TBPS (t-butylobicyklofosforotriazolu) do tego receptora (bez zmiany  $B_{\text{max}}$ ). Dalsze badania wykazały, że spośród ginsenozydów Re oraz Rf najsilniej zwiększały powinowactwo [ $^3\text{H}$ ]flunitrazepamu, przy czym wszystkie badane ginsenozydy nie wpływały na wiązanie [ $^{35}\text{S}$ ]TBPS. Udało się również wykazać, że całkowita frakcja saponin zmniejszała powinowactwo [ $^3\text{H}$ ]baklofenu do receptora  $\text{GABA}_B$  (bez zmiany  $B_{\text{max}}$ ) podobnie jak ginsenozyd Rc.

Inny zespół badaczy [65] również przeprowadził złożone badania nad interakcją pomiędzy oczyszczonymi ginsenozydami Rc oraz  $\text{Rg}_1$  (w postaci infuzji 10  $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}/\text{h}$  przez 7 dni) a [ $^3\text{H}$ ]flunitrazepamem. Po odczytaniu autoradiogramów stwierdzono, że podawanie ginsenozydu Rc spowodowało istotne zwiększenie (9%,  $p < 0,05$ ) wiązania [ $^3\text{H}$ ]flunitrazepamu do receptorów  $\text{GABA}_A$  na obszarze kory czołowej (warstwa IV). W innych obszarach mózgu (hipokamp, skorupa jądra ogoniastego i inne) nie zaobserwowano zmian w wiązaniu flunitrazepamu do receptorów  $\text{GABA}_A$ . Wyniki tych badań potwierdzają wcześniejsze obserwacje Kimury i wsp. [71].

Nowsze badania [82] dotyczące wpływu ginsenozydów  $\text{Rb}_1$ ,  $\text{Rb}_2$ , Rc, Rd, Re, Rf,  $\text{Rg}_1$  i  $\text{Rg}_2$  na rekombinowany receptor  $\text{GABA}_A$  ( $\alpha_1\beta_1\gamma_2\text{S}$ ) wykazały, że tylko ginsenozyd Rc zwiększał prąd  $\text{Cl}^-$  indukowany  $\text{GABA}$  ( $I_{\text{GABA}}$ ), a efekt ten był odwracalny i zależny od stężenia Rc. Wartość  $\text{EC}_{50}$  dla tego ginsenozydu wyniosła  $53,2 \pm 12,3 \mu\text{M}$ . Zaobserwowano również, że stymulujący efekt działania ginsenozydu Rc był znoszony przez bikukulinę oraz pikrotoksynę (odpowiednio kompetycyjny i niekompetycyjny antagonist receptoru  $\text{GABA}_A$ ). Natomiast blokery kanału jonowego NFA (ang. *niflumic acid*, kwas niflumowy) oraz DIDS (ang. *4,4'-diisothiocyanostilbene-2,2'-disulfonic acid*) osłabiały działanie Rc.

Badanie Janga i wsp. [83] *in vivo* wykazało aktywność metabolitów ginsenozydowych  $\text{Rh}_2$  oraz związku K wobec receptorów  $\text{GABA}_A$  oraz NMDA. Związki czynne ( $\text{Rg}_3$ ,  $\text{Rh}_2$ , K) podawano infuzyjnie (10  $\mu\text{g}/10 \mu\text{g}/\text{h}$ ) do bocznej komory mózgu szczurów przez 7 dni. Następnie po autoradiograficznej analizie ilościowej wykazano, że ginsenozyd  $\text{Rh}_2$  oraz związek K zwiększały wiązanie [ $^3\text{H}$ ]muscimolu w części kory czołowej (7–40%) oraz w warstwie ziarnistej kory mózdzku (18–20%),



przy czym nie wykazano aktywności ginsenozydu Rg<sub>3</sub>. Ponadto stwierdzono, że wszystkie badane związki czynne nie wpływały na wiązanie [<sup>3</sup>H]flunitrazepamu do receptora GABA<sub>A</sub>. W badaniu z zastosowaniem niekopetycyjnego antagonisty receptora NMDA – [<sup>3</sup>H]MK-801 wykazano, że zarówno w korze czołowej, jak i w hipokampie ginsenozyd Rh<sub>2</sub> oraz związek K istotnie zmniejszały wiązanie tego radioliganda do receptora NMDA (20–40%). Na tej podstawie stwierdzono, że metabolity ginsenozydów (Rh<sub>2</sub> oraz związek K) mogą odgrywać ważną rolę w terapii ischemicznego uszkodzenia mózgu oraz chorób neurodegeneracyjnych.

Inne badanie, przeprowadzone przez Tsang i wsp. [78] na preparatach synaptozomalnych z mózgu szczura, wykazało, że frakcja ginsenozydów *Panax ginseng* hamowała obrót metaboliczny dopaminy. Natomiast istnienie prawdopodobnych interakcji ginsenozydów z receptorami dopaminergicznymi wywnioskowano na podstawie wyników kilku badań przeprowadzonych w modelu zwierzęcym. Podczas testów behawioralnych Kim i wsp. [79, 80, 81] zaobserwowali, że ginsenozydy oraz ekstrakt G115 antagonizowały nadwrażliwość dopaminergicznych receptorów postsynaptycznych.

Wyniki omówionych badań podsumowano w tabeli 4.

Tabela 4.

Interakcje receptorowe i lekowe związków czynnych *Panax ginseng* dotyczące ośrodkowego układu nerwowego

receptor	związek czynny/ ekstrakt	zbadany efekt	piśmiennictwo
NMDA	ginsenozyd Rg <sub>1</sub>	↑ poziomu mRNA podtypu NR1 receptora ↓ poziomu mRNA podtypu NR1, NR2B receptora	64
	ginsenozydy Rc, Rg <sub>1</sub>	↓ wiązania radioaktywnego [(3)H]MK-801	65
	Ginsenozyd Rg <sub>3</sub>	interakcja z miejscem wiązania glicyny w receptorze ↓ aktywności receptora	66, 67
	(a) ginsenozyd Rg <sub>3</sub> (b) ginsenozyd Rh <sub>2</sub> (metabolit Rg <sub>3</sub> )	(a) ↓ aktywności receptora poprzez miejsce glicynowe na receptorze (b) aktywność właściwa dla kompetycyjnego inhibitora miejsca poliaminowego receptora	68
	metabolity ginsenozydowe: Rh <sub>2</sub> oraz związek K	↑ wiązania [3H]MK-801 do receptora - w korze czołowej i w hipokampie (20–40%)	83
glicynowy	ginsenozyd Rg <sub>3</sub>	aktywność właściwa dla niekompetycyjnych antagonistów receptorów glicynowych, ↓ strychnino-wrażliwego prądu glicynowego (I <sub>gly</sub> )	69
glicynowy	ginsenozydy Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub> , Rg <sub>3</sub> , Rc, Rf, Rg <sub>1</sub> , Re	↑ wewnętrznego prądu receptorów glicynowych α <sub>1</sub>	70

serotoninerгіczny 5-HT <sub>3A</sub>	ginsenozyd Rg <sub>2</sub>	↓ I <sub>5-HT</sub> (efekt, odwracalny, niekompetycyjny i niezależny od napięcia a zależny od stężenia ginsenozydu)	72
	ginsenozyd Rg <sub>3</sub>	↓ I <sub>5-HT</sub> (efekt niekompetycyjny, zależny od stężenia Rg <sub>3</sub> )	74
	stereoizomeryczne odmiany ginsenozydu 20(S)-Rg <sub>3</sub> oraz 20(R)-Rg <sub>3</sub>	↓ aktywności receptora zależny od struktury stereoizomerycznej ginsenozydów: silniejsze hamowanie I <sub>5-HT</sub> przez 20(S)-Rg <sub>3</sub> w porównaniu z 20(R)-Rg <sub>3</sub>	75
	metabolity ginsenozydowe: związek K oraz M4	↓ I <sub>5-HT</sub> , silniejsze hamowanie I <sub>5-HT</sub> przez M4 w porównaniu ze związkiem K – efekt aktywności M4 – niekompetycyjny i niezależny od napięcia	73
nAChR nikotynowe receptory cholinergiczne typu neuronalnego	ginsenozyd Rg <sub>2</sub>	↓ aktywności elektrofizjologicznej wszystkich receptorów heteromerycznych z wyjątkiem receptora homomerycznego α <sub>7</sub> – efekt desensytyzacji heteromerycznych receptorów nACh – aktywność właściwa dla niekompetycyjnych antagonistów	76
		↓ I <sub>ACh</sub> receptorów z podjednostkami α <sub>3</sub> β <sub>4</sub> lub αβδε, z wyjątkiem receptora z podjednostkami α <sub>7</sub> – efekt niekompetycyjny, odwracalny, zależny od stężenia ginsenozydu, niezależny od napięcia	77
	ginsenozydy Rg <sub>2</sub> , Rf, Rg <sub>1</sub> , Re, Rb <sub>1</sub> , Rc, Rb <sub>2</sub>	pod względem siły hamowania I <sub>ACh</sub> receptorów nACh z podjednostkami α <sub>3</sub> β <sub>4</sub> : Rg <sub>2</sub> > Rf > Re > Rg <sub>1</sub> > Rc > Rb <sub>2</sub> > Rb <sub>1</sub> oraz receptorów nACh z podjednostkami αβδε: Rg <sub>2</sub> > Rf > Rg <sub>1</sub> > Re > Rb <sub>1</sub> > Rc > Rb <sub>2</sub>	77
kompleks receptor GABA <sub>A</sub> - BDZ - kanał chlorkowy	GTS (Rb <sub>1</sub> , Rb <sub>2</sub> , Rc, Re, Rf, Rg <sub>1</sub> )	↓ powinowactwa i specyficznego wiązania [3H]muscimolu do receptora ↑ powinowactwa i specyficznego wiązania [ <sup>3</sup> H]flunitrazepamu do receptora (najsilniejsza aktywność Re oraz Rf)	71
	ginsenozyd Rc oraz Rg <sub>1</sub>	↓ powinowactwa i specyficznego wiązania [ <sup>35</sup> S]TBPS do receptora	
GABA <sub>B</sub>	ginsenozyd Rc	↑ wiązania [ <sup>3</sup> H]flunitrazepamu do receptora	65
	ginsenozyd Rc	↑ prądu Cl <sup>-</sup> (I <sub>GABA</sub> ) – efekt odwracalny i zależny od stężenia Rc	82
	metabolity ginsenozydowe: Rh <sub>2</sub> oraz związek K	↑ wiązania [ <sup>3</sup> H]muscimolu do receptora GABA <sub>A</sub> - w części kory czołowej (7–40%), w warstwie ziarnistej kory mózdzku (18–20%), (brak wpływu na wiązanie [ <sup>3</sup> H]flunitrazepamu do receptora GABA <sub>A</sub> )	83
	GTS	↓ specyficznego wiązania leku do receptora GABA <sub>B</sub>	71

## Interakcje receptorowe związków czynnych *Panax ginseng* z lekami syntetycznymi zbadane na zwierzętach

Badania przeprowadzone przez Lee i wsp. [84] miały na celu wykazanie korzystnego efektu farmakodynamicznego całkowitej frakcji saponin z *Panax ginseng* u zwierząt, którym podawano etanol w dawce indukującej amnezję (osłabianie

fazy powstawania pamięci, ang. *impaired the acquisition of memory*). Podczas przeprowadzania testów behawioralnych (test biernego unikania, ang. *passive avoidance performance test; step through test*) grupie zwierząt podano pojedynczą dawkę frakcji saponin *Panax ginseng* [Rb<sub>1</sub> (18,26%), Rb<sub>2</sub> (9,07%), Rc (9,65%), Rd (8,24%), Re (9,28%), Rf (3,48%), Rg<sub>1</sub> (6,42%), Rg<sub>2</sub> (3,62%), Rg<sub>3</sub> (4,70%), Ro (3,92%), Ra (2,91%)] (100, 200 mg/kg m.c., p.o.) 30 min przed podaniem etanolu (3,0 g/kg m.c., p.o.). W celu porównania efektów innej grupie zwierząt podano piracetam (500 mg/kg, p.o.) lub N-metylo-D-glukaminę (500 mg/kg, p.o.) również 30 min przed podaniem takiej samej dawki etanolu. Wykazano, że pojedyncza dawka frakcji saponin *Panax ginseng* wydłużała okres latencji w fazie nabywania informacji (latencją określano czas wchodzenia szczura do ciemnego kompartymentu) w stosunku do zwierząt otrzymujących etanol. Efekt zaobserwowany po podaniu pojedynczej dawki frakcji saponin był porównywalny z efektem po piracetamie oraz większy niż po N-metylo-D-glukaminie. Natomiast przy powtarzonym dawkowaniu efekt wydłużania latencji był większy po N-metylo-D-glukaminie. Ponadto wykazano, że lepsze efekty w odwracaniu amnezji indukowanej etanolem obecne były po siedmiodniowym okresie podawania frakcji saponin *Panax ginseng* (200 mg/kg, p.o.). Wykazano przy tym, że poprawianie fazy nabywania informacji po podaniu frakcji saponin *Panax ginseng* (u szczurów z amnezją indukowaną etanolem) jest procesem zależnym od aktywności neuronów katecholaminergicznych. Na podstawie tych wyników wydaje się, że frakcja saponin *Panax ginseng* wchodzi w interakcję antagonistyczną z etanolem.

Jedną z dokładniej zbadanych interakcji jest wpływ całkowitej frakcji saponin na działania niepożądane indukowane podawaniem morfiny lub apomorfiny [79, 80, 81, 85]. Badania przeprowadzone zostały w modelu zwierzęcym (testy behawioralne), a następnie, na podstawie dostępnej już wiedzy o mechanizmie działania leków z grupy opioidów, próbowano wyjaśnić podłoże zachodzących interakcji saponin *Panax ginseng* z tymi lekami.

Kim i wsp. [79] badali wpływ całkowitej frakcji saponin (GTS) otrzymanej z koreni *Panax ginseng* [Rb<sub>1</sub> (18,26%), Rb<sub>2</sub> (9,07%), Rc (9,65%), Rd (8,24%), Re (9,28%), Rf (3,48%), Rg<sub>1</sub> (6,42%), Rg<sub>2</sub> (3,62%), Rg<sub>3</sub> (4,70%), Ro (3,92%), Ra (2,91%)], którą podawano w iniekcji myszom (100 lub 200 mg/kg, i.p.) 3 godziny przed podaniem morfiny (10 mg/kg, s.c.). Po wykonaniu badań nad hiperaktywnością zwierząt indukowaną morfiną wykazano, że podawanie frakcji GTS (100 mg/kg, i.p.) istotnie hamowało ten efekt. Mniejszy efekt zaobserwowano po wyższej dawce GTS. Wykazano również, że frakcja GTS (50 mg/kg, i.p.) istotnie hamowała warunkową preferencję miejsca (test CPP, ang. *conditioned place preference*) indukowaną podaniem morfiny (5 mg/kg, i.p. przez 8 dni). Wyniki tych doświadczeń wskazały, że podczas pojawiania się warunkowej preferencji miejsca rozwija się nadmierne uwrażliwienie receptorów dopaminergicznych (DA), które stanowi podłoże rozwoju zjawiska odwrotnej tolerancji (zwanej również sensytyzacją – stan, w którym reakcja na działanie środka farmakologicznego nasila się pod wpływem wielokrotnego stosowania) oraz że frakcja GTS blokuje rozwój tej nadwrażliwości.

W kolejnym doświadczeniu tych samych autorów [79] wykazano, że frakcja GTS (100 i 200 mg/kg i.p.) zmniejszała wyniki testu behawioralnego – wspinania się zwierząt (ang. *climbing test*) indukowanego apomorfina (2 mg/kg, i.p.). Wyniki tego doświadczenia pokazały, że pojedyncze podanie frakcji GTS miało działanie antydopaminergiczne (podobnie jak haloperidol) [79]. Autorzy badania sugerowali, że frakcja ginsenozydów podawana przed lub podczas podawania morfiny miała zdolność modulowania nadaktywności układu dopaminergicznego. Przypuszcza się, że w mechanizm tej aktywności GTS zaangażowane jest działanie antydopaminergiczne skierowane na postsynaptyczne receptory dopaminergiczne. Ponadto wysunięto przypuszczenie, że GTS może wpływać korzystnie na zapobieganie działaniom niepożądanym morfiny. Działanie ginsenozydów można zatem traktować jako interakcję antagonistyczną w stosunku do receptorów DA. Inne doświadczenia, dotyczące tych samych modeli badawczych, przeprowadzone przez Kima i wsp. [86], potwierdziły statystycznie istotne działanie (hamowanie hiperaktywności) ginsenozydów Rg<sub>1</sub> (50, 100, 200 mg/kg, i.p.) oraz Rb<sub>1</sub> (50, 100, 200 mg/kg, i.p.) podawanych 3 godziny przed podaniem morfiny (10 mg/kg, s.c.) myszom. Podobny efekt działania ginsenozydów dotyczący hamowania odwrotnej tolerancji oraz zmniejszania hiperaktywności zaobserwowano po kokainie oraz metamfetaminie [80, 81, 88].

Badania Guo i wsp. [85] wykazały w tym zakresie efekt zależny od struktury chemicznej ginsenozydów. Zaobserwowano, że ginsenozyd Re (podany dożołądkowo 1 godzinę przed iniekcją morfiny) zwiększał u myszy hiperaktywność indukowaną podaniem morfiny (10 mg/kg s.c), natomiast ginsenozydy Rb<sub>2</sub> oraz Rg<sub>1</sub> (0,5x10<sup>-5</sup>, 1,0x10<sup>-5</sup> mol/kg i.p.) zachowywały się antagonistycznie w stosunku do hiperaktywności. Badania nad mieszaniną ginsenozydów Rd, Rb<sub>2</sub>, Rg<sub>1</sub>, Re (stosunek 1:1:1:1, dwie dawki 0,5x10<sup>-5</sup>, 1,0x10<sup>-5</sup> mol/kg i.p.) wykazały dużą zdolność do hamowania hiperaktywności, podczas gdy mieszanina ze zwiększoną zawartością ginsenozydu Re (stosunek 1:1:1:2) nie wykazała statystycznie istotnego zmniejszenia niepożądanego działania morfiny.

Wcześniejsze badania Kim i wsp. [89] również wykazały, że całkowita frakcja saponin *Panax ginseng* (skład frakcji jak powyżej) hamowała rozwój odwrotnej tolerancji w wyniku podawania morfiny (10 mg/kg, s.c. przez 7 dni). Efekt taki zaobserwowano przy podawaniu frakcji saponin w dawce 100 mg/kg oraz 200 mg/kg i.p. 3 godziny przed podawaniem morfiny. Autorzy wysunęli wniosek, że saponiny *Panax ginseng* zapobiegają rozwojowi nadmiernego uwrażliwienia receptorów dopaminergicznych (DA), zjawiska będącego podłożem rozwoju tolerancji przy wielokrotnym podawaniu morfiny [73]. Kolejne badania nie potwierdziły jednak aktywności antydopaminergicznej ginsenozydów Rg<sub>1</sub> i Rb<sub>1</sub> w stosunku do postsynaptycznych receptorów DA (test z apomorfina, 2 mg/kg, s.c.) [86]. Być może wynikało to z faktu, iż aktywność ginsenozydów wydaje się być związana z modulowaniem aktywności receptorów dopaminergicznych położonych presynaptycznie, co skutkuje również hamowaniem postsynaptycznej aktywności dopaminergicznej [80].

Wcześniejsze badania [87] wykazały, że na mechanizm działania ekstraktu standaryzowanego *Panax ginseng* G115 o tendencji do hamowania rozwoju tolerancji na morfinę ma zachodzić poprzez zwiększanie przez G115 poziomu wątrobowego glutationu, który bierze udział w metabolizmie morfiny (morfinon tworzy połączenie z glutationem) i detoksykacji. Inne badania potwierdziły tę obserwację [91-93]. Wynika z tego, że interakcja związków czynnych ekstraktów korzeni *Panax ginseng* (w tym G115) może mieć podłoże nie tylko farmakodynamiczne, ale i farmakokinetyczne.

Takahashi i wsp. [88] przeprowadzili badania nad działaniem standaryzowanego ekstraktu z korzeni *Panax ginseng* (G115) na efekt antynocyceptywny morfiny (osłabienie wrażliwości na bodźce bólowe po aktywacji receptorów opioidowych) u myszy poddanych stresowi. Zwierzęta poddano różnym sytuacjom stresowym, takim jak stres wynikający z wymuszonego pływania (SWS), stres związany z drażnieniem łap prądem (FS) oraz sytuacji stresowej nazywanej przez autorów stresem psychologicznym (PS). Badanie wykazało, że podawanie ekstraktu G115 (100 mg/kg, p.o.) 1 godzinę przed podaniem morfiny (10 mg/kg, s.c.) przez 5 dni nie wpływało negatywnie na efekt antynocyceptywny morfiny. Wcześniejsze badania również nie wykazały istotnego wpływu ekstraktu G115 na analgetyczne działanie morfiny [90]. Ponadto zaobserwowano [88], że podawanie ekstraktu G115 całkowicie znosiło hamujące działanie stresu (FS) na rozwój antynocyceptywnej tolerancji na morfinę. Autorzy są zdania, że antagonistyczny efekt ekstraktu G115 skierowany na indukowaną stresem supresję rozwoju tolerancji na morfinę może wynikać z właściwości antystresowych ekstraktu z korzeni *Panax ginseng*.

Analizując wykazany w licznych badaniach wpływ związków czynnych ekstraktu z korzeni *Panax ginseng* na układ opioidowy, należy wymienić składowe tego działania (jako wynik interakcji farmakodynamicznych i farmakokinetycznych): hamowanie powstawania odwrotnej tolerancji (sensytyzacji) na opioidy oraz hamowanie hiperaktywności indukowanej morfiną poprzez antydopaminergiczne działanie skierowane na postsynaptyczne receptory dopaminergiczne (antagonizm w stosunku do opioidów); hamowanie rozwoju tolerancji morfiny, zwiększanie poziomu wątrobowego glutationu, który bierze udział w metabolizmie morfiny (zmiany w farmakokinetyce morfiny), prawdopodobny brak bezpośredniego oddziaływania na receptory opioidowe z uwagi na brak wpływu na efekty przeciwbólowe opioidów. Należy również stwierdzić, podobnie jak uważa większość autorów, że dzięki wykazaniu takiego profilu interakcji związków czynnych *Panax ginseng* z lekami opioidowymi ekstrakty na bazie korzeni żeń-szenia mogą stanowić opcję w leczeniu uzależnienia od morfiny. Wydaje się jednak, że przydatność takiego oddziaływania będzie można jednoznacznie ocenić dopiero po przeprowadzeniu badań klinicznych nad tym aspektem interakcji lekowych. Interakcje *Panax ginseng* w modelu zwierzęcym podsumowano w tabeli 5.

Tabela 5.

Interakcje o złożonych mechanizmach związków czynnych *Panax ginseng* z lekami syntetycznymi wynikające z badań w modelu zwierzęcym

lek	związek czynny/ekstrakt	zbadany mechanizm i efekt interakcji	piśmiennictwo
morfina 10 mg/kg s.c.	całkowita frakcja saponin (GTS) dawka: 100 lub 200 mg/kg iniekcyjnie i.p. myszom 3 godziny przed podaniem morfiny	<u>mechanizm farmakodynamiczny:</u> - antydopaminergiczne działanie skierowane na postsynaptyczne receptory dopaminergiczne, - ↓ nadmiernego uwrażliwienia (supersensitivity) receptorów dopaminergicznych (DA)	87 (*), 90 (*), 91 (*), 92 (*), 93 (*), 79, 80, 81, 85, 88 (**)
	ekstrakt G115 dawka: 100 mg/kg p.o. (podanie 1 godzinę przed podaniem morfiny przez 5 dni) (**)	<u>mechanizm farmakokinetyczny:</u> ↑ poziomu wątrobowego glutationu (*), który bierze udział w metabolizmie morfiny i detoksykacji	
		<u>efekt farmakodynamiczny w testach behawioralnych:</u> ↓ nadaktywności (działanie niepożądane morfiny) ↓ rozwoju tolerancji na morfina, ↓ rozwoju odwrotnej tolerancji, ↓ warunkowej preferencji miejsca, ↓ wspinania się zwierząt indukowanego apomorfina	
etanol 3,0 g/kg, p.o.	frakcja saponin <i>Panax ginseng</i> dawka: 100, 200 mg/kg m.c., p.o. 30 min przed podaniem etanolu	<u>Efekt farmakodynamiczny:</u> odwracanie amnezji indukowanej etanolem  możliwe zachodzenie interakcji antagonistycznej saponin <i>Panax ginseng</i> z etanolem	84

[(\*), (\*\*)] – oznaczenia zamieszczone przy autorach odnoszą się do wyników ich badań cytowanych w tabeli]

W podsumowaniu, na podstawie przeprowadzonego przeglądu piśmiennictwa, należy pokreślić, że w celu weryfikacji efektów interakcji substancji roślinnych z lekami syntetycznymi na poziomie receptorów OUN istnieje konieczność przeprowadzenia dalszych badań farmakologicznych z zastosowaniem nowszych metod badawczych.

## PODZIĘKOWANIA

Autorzy składają podziękowanie mgr Jackowi Kujawskiemu z Katedry i Zakładu Chemii Organicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu za graficzne opracowanie struktury chemicznej związków biologicznie czynnych.



Praca była finansowana z projektu badawczego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N405 023 31/1522.

## PIŚMIENNICTWO

1. Duke J. CRC Handbook of medicinal herbs. Boca Raton 1985:503-4.
2. McKenna DJ, Jones K, Hughes K, Humphrey S. Botanical Medicines. The desk references for major herbal supplements. Second edition. Monograph: Valerian. The Haworth Press 2002:1007-37.
3. American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium. Analytical, quality control, and therapeutic monograph. Valerian root (*Valeriana officinalis*). Santa Cruz, USA, 1999.
4. European Medicines Agency. Assessment report on *Valeriana officinalis* L., radix. Committee on herbal medicinal products (HMPC). London, 29 November 2007 Doc. Ref. EMEA/HMPC/167391/2006
5. de Oliveria DM, Barreto G, de Andrade DVG, Saraceno E, Aon-Bertolino L, Capani F, El Bacha RDS, Giraldez LD. Cytoprotective effect of *Valeriana officinalis* extract on an In vitro experimental model of Parkinson disease. Neurochem Res 2008 (in press).
6. Malva JO, Santos S, Macedo T. Neuroprotective properties of *Valeriana officinalis* extracts. Neurotox Res. 2004; 6:131-40.
7. Balduini W, Cattabeni F. Displacement of [<sup>3</sup>H]-N<sup>6</sup>-cyclohexyladenosine binding to rat cortical membranes by a hydroalcoholic extract of *Valeriana officinalis*. Med Sci Res 1989; 1:639-40.
8. Müller CE, Schumacher B, Brattstrom A, Abourashed EA, Koetter U. Interactions of valerian extracts and a fixed valerian-hop extract combination with adenosine receptors. Life Sci. 2002; 71:1939-49.
9. Müller CE. A1 adenosine receptors and their ligands: overview and recent developments. Il Farnaco 2000; 56:77-80.
10. Cavadas C, Araújo I, Cotrim MD, Amaral T, Cunha AP, Macedo T, Fontes Ribeiro C. In vitro study on the interaction of *Valeriana officinalis* L. extracts and their amino acids on GABA<sub>A</sub> receptor in rat brain. Arzneim-Forsch/Drug Res 1995; 45:753-5.
11. Ferreira F, Santos MS, Faro C, Pires E, Carvalho AP, Cunha AP, Macedo T. Effect of extracts of *Valeriana officinalis* on [<sup>3</sup>H]GABA. Release in synaptosomes: further evidence for the involvement of free GABA in the valerian-induced release. Rev Port Farm. 1996; 46:74-7.
12. Mennini T, Bernasconi P, Bombardelli E, Morazzoni P. In vitro study on the interaction of extracts and pure compounds from *Valeriana officinalis* roots with GABA, benzodiazepine and barbiturate receptors in rat brain. Fitoterapia 1993; 64:291-300.
13. Ortiz JG, Nieves-Natal J, Chavez P. Effects of *Valeriana officinalis* extracts on [<sup>3</sup>H]flunitrazepam binding, synaptosomal [<sup>3</sup>H]GABA uptake and hippocampal [<sup>3</sup>H]GABA release. Neurochem Res 1999; 24:73-8.
14. Barnard EA, Skolnick P, Olsen W, Mohler H, Sieghart W, Biggio G, Braestrup C, Bateson AN, Langer SZ. International Union of Pharmacology. XV. Suptypes of GABA-A receptors: classification on the basis of subunit structure and receptor function. Pharmacol Rev 1998; 50:291-313.
15. Lacher SK, Mayer R, Scharhardt K, Niebem K, Muller CE. Interaction of valerian extracts of different polarity with adenosine receptors: identification of isovaltrate as an inverse agonist At A1 receptors. Biochem Pharmacol. 2007; 73:248-58.
16. Trauner G, Khom S, Baburin I, Benedek B, Hering S, Kopp B. Modulation of GABA(A) receptors by valerian extracts is related to the content of valerenic acid. Planta Med 2008; 74:19-24.
17. Benke D, Barberis A, Kopp S, Altmann KH, Schubiger M, Vogt KE, Uwe R, Möhler H. GABA<sub>A</sub> receptors as in vivo substrate for the anxiolytic action of valerenic acid, a major constituent of valerian root extracts. Neuropharmacology 2008 (in press)
18. Khom S, Baburin I, Timin E, Hohaus A, Trauler G, Kopp B, Hering S. Valerenic acid potentiates and inhibits GABAA receptors: molecular mechanism and subunit specificity. Neuropharmacol. 2007; 53:178-87.
19. Dietz BM, Mahady GB, Pauli GF, Farnsworth NR. Valerian extract and valerenic acid are partial agonists of the 5-HT<sub>5a</sub> receptor in vitro. Molecular Brain Research 2005; 138:191-7.
20. Hendriks H, Bos R, Woerdenbag HJ, Koster AS. Central nervous depressant activity of valerenic acid in the mouse. Planta Med 1985; 51:28-31.

21. Granger RE, Campbell EL, Johnson GAR. (+) and (-)-borneol: efficacious positive modulators of GABA action at human recombinant  $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$  GABA(A) receptors. *Biochem Pharmacol* 2005; 69:1101-11.
22. Loscalzo LM, Wasowski C, Paladyni AC, Marder M. Opioid receptors are involved In the sedative and antinociceptive effects of hesperidin as well as In its potentiation with benzodiazepines. *Eur J Pharmacol* 2008; 580:306-13.
23. Marder M, Viola H, Wasowski C, Fernandez S, Medina JH, Paladyni AC. 6-methylapigenin and hesperidin: new valeriana flavonoids with activity on the CNS. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; 75:537-45.
24. Wasowski C, Marder M, Viola H, Medina JH, Paladyni AC. Isolation and identification of 6-methylapigenin, a competitive ligand for the brain GABA(A) receptors, from *Valeriana wallichii* D.C. *Planta Med* 2002; 68:934-6.
25. Fernandez S, Wasowski C, Paladini AC, Marder M. Sedative and sleep-enhancing properties of linarin, a flavonoid-isolated from *Valeriana officinalis*. *Pharmacol Biochem Behav*. 2004; 77:399-404.
26. Schumacher B, Scholle S, Holz J, Khudeir N, Hess S, Muller E. Lignans isolated from valerian: identification and characterization of a new olivil derivative with partial agonistic activity at A1 adenosine receptors. *J Nat Prod* 2002; 65:1479-85.
27. Neuhaus W, Trauner G, Gruber D, Oelzant S, Klepal W, Kopp B, Noe CR. Transport of a GABA receptor modulator and its derivatives from *Valeriana officinalis* L. s. l. across an in vitro cell culture model of the blood-brain-barrier. *Planta Med* 2008; 74:1338-44.
28. Vissienon Z, Sichardt K, Koetter U, Brattstrom A, Nieber K. Valerian extract Ze 911 inhibits postsynaptic potentials by activation of adenosine A1 receptors in rat cortical neurons. *Planta Med* 2006; 72:579-83.
29. Schellenberg R, Sauer S, Abourashed EA, Kotter U, Brattstrom A. The fixed combination of walerian and hops (Ze 91019) acts via a central adenosine mechanism. *Planta Med* 2004; 70:594-7.
30. Simon J, Wakimoto H, Fujita N, Lalande M, Barnard EA. Analysis of the set of GABA(A) receptor genes in the human genome. *J Biol Chem* 2004; 279:41422-35.
31. Ożarowski A. Surowce roślinne: *Valeriana officinalis* [s. 208-209] w: Muszyński J, Górski M, Kałużyński H, Połomski Z. *Vademecum fitoterapii*. Wyd. 2, Warszawa 1956.
32. Thies PW. *Tetrahedron Lett*. 1966;11:1163 [in:] Bos R, Woerdenbag HJ, Pras N. Determination of valepotriates. *J Chromatography A*. 2002;967:131-146.
33. Marder M, Paladyni AC. GABA(A)-receptor ligand sof flavonoid structure. *Curr Topics Med Chem*. 2002;2:853-867.
34. Wang F, Huen MSY, Tsang SY, Xue H. Neuroactive flavonoids interacting with GABA(A) receptor complex. *Current Drug Targets – CNS & Neurological Disorders* 2005;4:575-585.
35. Johnston GAR, Hanrahan JR, Chebib M, Duke RK, Mewett KN. Modulation of ionotropic GABA receptors by natural products of plant origin. *Adv Pharmacol* 2006; 54:285-316.
36. Fernandez S, Wasowski C, Loscalzo LM, Granger RE, Johnston GAR, Paladini AC, Marder M. Central nervous system depressant of flavonoid glycosides. *Eur J Pharmacol* 2006; 539:168-76.
37. Bodesheim U, Hölzl J. Isolierung, Strukturklärung und Radiorezeptorassays von Alkaloiden und Lignanen aus *Valeriana officinalis* L. *Pharmazie* 1997; 52:386-91.
38. Hendriks H, Bos R, Woerdenbag HJ, Koster AS. Central nervous depressant activity of valerianic acid in the mouse. *Planta Med*. 1985; 51:28-31.
39. Sakamoto T, Mitani Y, Nakajima K. Psychotropic effects of Japanese valerian root extract. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1992; 40:758-61.
40. Leuschner J, Muller J, Rudmann M. Characterisation of the central nervous depressant activity of a commercially available valerian root extract. *Arzneimittelforschung*. 1993; 43:638-41.
41. Hiller K-O, Zetler G. Neuropharmacological studies on ethanol extracts of *Valeriana officinalis* L.: behavioural and anticonvulsant properties. *Phytotherapy Res* 1996; 10:145-51.
42. Petkov V, Manolov P. To the pharmacology of iridoids. *Agressologie*. 1975; 16:25-30.
43. ESCOP monographs on the medicinal use of plant drugs. The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products. *Valeriana radix*. European Scientific Cooperative On Phytotherapy. 2<sup>nd</sup> ed. Completely revised and expanded, Exeter, United Kingdom: ESCOP, Georg Thieme Verlag, New York 2003:539-44.
44. Morazzoni P, Bombardelli E. *Valeriana officinalis*: traditional use and recent evaluations of activity. *Fitoterapia* 1995; 66:99-112.
45. Song JY, Akhalaia M, Platonov A, Kim HD, Jung IS, Han YS, Yun YS. Effects of polysaccharide ginsan from *Panax ginseng* on liver function. *Arch Pharm Res* 2004; 27:531-8.

46. Lim TS, Na K, Choi EM, Chung JY, Hwang JK. Immunomodulating activities of polysaccharides isolated from *Panax ginseng*. *J Med Food* 2004; 7:1-6.
47. Choi KT. Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean *Panax ginseng* CA Meyer. *Acta Pharmacol Sin* 2008a; 29:1109-18.
48. Choi HS, Kim KH, Sohn E, Park JD, Kim BO, Moon EY, Rhee DK, Pyo S. Red ginseng acidic polysaccharide (RGAP) in combination with IFN-gamma results in enhanced macrophage function through activation of the NF-kappaB pathway. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2008b; 72:1817-25.
49. Jang DJ, Lee MS, Shin BC, Lee YC, Ernst E. Red ginseng for treating erectile dysfunction: a systematic review. *Br J Clin Pharmacol*. 2008; 66:444-50.
50. Wang W, Rayburn ER, Hao M, Zhao Y, Hill DL, Zhang R, Wang H. Experimental therapy of prostate cancer with novel natural product anti-cancer ginsenosides. *Prostate* 2008; 68:809-19.
51. Christensen LP. Ginsenosides chemistry, biosynthesis, analysis, and potential health effects. *Adv Food Nutr Res* 2009; 55:1-9.
52. Lee JH, Kim SR, Bae CS, Kim D, Hong HN, Nah SY. Protective effect of ginsenosides, active ingredients of *Panax ginseng*, on kainic acid-induced neurotoxicity in rat hippocampus. *Neurosci Letters* 2002; 325:129-33.
53. Lian XY, Zhang Z, Stringer JL. Protective effects of ginseng components in a rodent model of neurodegeneration. *Ann Neurol* 2005; 57:642-48.
54. Rodad K, Gille G, Liu L, Rausch WD. Use of ginseng in medicine with emphasis on neurodegenerative disorders. *J Pharmacol Sci* 2006; 100:175-86.
55. Rausch WD, Liu S, Gille G, Radad K. Neuroprotective effects of ginsenosides. *Acta Neurobiol Exp*. 2006; 66:369-75.
56. Kim JH, Cho SY, Lee JH, Jeong SM, Yoon IS, Lee BH, Lee JH, Pyo MK, Lee SM, Chung JM, Kim S, Rhim H, Oh JW, Nah SY. Neuroprotective effects of ginsenoside Rg<sub>3</sub> against homocysteine-induced excitotoxicity in rat hippocampus. *Brain Res* 2007; 1136:190-99.
57. Xiang YZ, Shang HC, Gao XM, Hang BL. A comparison of the ancient use of ginseng in traditional Chinese medicine with modern pharmacological experiments and clinical trias. *Phytotherapy Res* 2008; 22:851-8.
58. Joo SS, Yoo YM, Ahn BW, Nam SY, Kim YB, Hwang KW, Lee DI. Prevention of inflammation mediated neurotoxicity by Rg<sub>3</sub> and its role in microglial activation. *Biol Pharm Bull* 2008; 31:1392-96.
59. Zhang G, Liu A, Zhou Y, San X, Jin T, Jin Y. *Panax ginseng* ginsenoside-Rg2 protects memory impairment via anti-apoptosis in a rat model with vascular dementia. *Journal of Ethnopharmacol* 2008; 115:441-8.
60. Lee ST, Chu K, Sim JY, Heo JH, Kim M. *Panax ginseng* enhances cognitive performance in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disorder* 2008; 22:222-6.
61. Heo JH, Lee ST, Chu K, Oh MJ, Park HJ, Shim JY, Kim M. An open-label trial of Korean red ginseng as an adjuvant treatment for cognitive impairment in patients with Alzheimer's disease. *Eur J Neurol* 2008; 15:865-8.
62. ESCOP monographs on the medicinal use of plant drugs. The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products. *Ginseng radix*. European Scientific Cooperative On Phytotherapy. 2<sup>nd</sup> ed. Completely revised and expanded, Exeter, United Kingdom: ESCOP, Georg Thieme Verlag, New York 2003:211-23.
63. Nah SY, Kim DH, Rhim H. Ginsenosides: are any of them candidates for drugs acting on the central nervous system? *CNS Drug Rev*. 2007; n13:381-404.
64. Kim HS, Hwang SL, Oh S. Ginsenoside Rc and Rg1 differentially modulate NMDA receptor subunit mRNA levels after intracerebroventricular infusion in rats. *Neurochem Res* 2000; 25:1149-54.
65. Kim HS, Hwang SL, Nah SY, Oh S. Changes of [3H]MK-801, [3H]muscimol and [3H]flunitrazepam binding in rat brain by the prolonged ventricular infusion of ginsenoside Rc and Rg1. *Pharmacol Res* 2001; 43:473-9.
66. Kim S, Ahn K, Oh TH, Nah SY, Rhim H. Inhibitory effect of ginsenosides on NMDA receptor-mediated signals in rat hippocampal neurons. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 296:247-54.
67. Kim S, Kim T, Ahn K, Park WK, Nah SY, Rhim H. Ginsenoside Rg3 antagonizes NMDA receptors through a glycine modulatory site in rat cultured hippocampal neurons. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 323:416-24.
68. Lee E, Kim S, Chung KC, Choo MK, Kim DH, Nam G, Rhim H. 20(S)-ginsenoside Rh2, a newly identified active ingredient of ginseng, inhibits NMDA receptors in cultured rat hippocampal neurons. *Eur J Pharmacol* 2006; 536:69-77.
69. Xu YX, Shi JS, Jiang ZL. Inhibitory influence of ginsenoside Rb3 on activation of strychnine-sensitive glycine receptors in hippocampal neurons of rats. *Brain Res* 2005; 1037:99-106.

70. Noh JH, Choi S, Lee JH, Betz H, Kim JI, Park CS, Lee SM, Nah SY. Effects of ginsenosides on glycine receptor  $\alpha 1$  channels expressed in *Xenopus oocytes*. Mol Cells 2003; 15:34-39.
71. Kimura T, Saunders PA, Kim HS, Rhee HM, Oh KW, Ho IK. Interactions of ginsenosides with ligand-bindings of GABA(A) and GABA(B) receptors. Gen Pharmacol 1994; 25:193-9.
72. Choi S, Lee JH, Oh S, Rhim H, Lee SM, Nah SY. Effects of ginsenoside Rg2 on the 5-HT3A receptor-mediated ion current in *Xenopus oocytes*. Mol Cells 2003; 15:108-13.
73. Lee BH, Leong SM, Lee JH, Kim DH, Kim JH, Kim JI, Shin HC, Lee SM, Nah SY. Differentia effect of ginsenoside metabolites on the 5-HT3A receptor-mediated ion current in *Xenopus oocytes*. Mol Cells 2004; 17:51-6.
74. Lee BH, Lee JH, Lee SM, Jeong SM, Yoon IS, Lee JH et al. Identification of ginsenoside interaction sites in 5-HT3A receptors. Neuropharmacol. 2007a; 52:1139-50.
75. Lee BH, Lee JH, Yoon IS, Lee JH, Choi SH, Shin TJ, Pyo MK, Choi WS, Lee SM, Lim Y, Rhim H, Nah SY. Mutations of arginine 222 in pre-transmembrane domain I of mouse 5-HT(3A) receptor abolish 20(R)- but not 20(S)-ginsenoside Rg(3) inhibition of 5-HT-mediated ion currents. Biol Pharm Bull. 2007b; 30:1721-6.
76. Sala F, Mulet J, Choi S, Jung SY, Nah SY, Rhim H, Valor LM, Criado M, Sala S. Effects of ginsenoside Rg2 on human neuronal nicotinic acetylcholine receptors. J Pharmacol Exp Ther 2002; 301:1052-9.
77. Choi S, Jung SY, Lee JH, Sala F, Criado M, Mulet J, Valor LM, Sala S, Engel AG, Nah SY. Effects of ginsenosides, active components of ginseng, on nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus oocytes*. Eur J Pharmacol. 2002; 442:37-45.
78. Tsang D, Yeung HW, Tso WW, Peck H. Ginseng saponins: influence on neurotransmitter uptake in rat brain synaptosomes. Planta Med 1985; 3:221-4.
79. Kim HS, Jang CG, Oh KW, Oh S, Rhee HM, Rhee GS, Seong YH, Park WK. Effects of ginseng total saponin on morphine-induced hyperactivity and conditioned place preference in mice. J Ethnopharmacol. 1998; 60:33-42.
80. Kim HS, Kim KS, Oh KW. Inhibition by ginsenosides Rb1 and Rg1 of cocaine-induced hyperactivity, conditioned place preference and postsynaptic dopamine receptor supersensitivity in mice. Pharmacol Biochem Behav 1999; 63:407-12.
81. Kim HC, Shin EJ, Jang CG, Lee MK, Eun JS, Hong JT, Oh KW. Pharmacological action of *Panax ginseng* on the behavioral toxicities induced by psychotropic agents. Arch Pharm Res. 2005; 28:995-1001.
82. Choi SE, Choi S, Lee JH, Whiting PJ, Lee SM, Nah SY. Effects of ginsenosides on GABA(A) receptor channels expressed in *Xenopus oocytes*. Arch Pharm Res 2003; 26:28-33.
83. Jang S, Ryu JH, Kim DH, Oh S. Changes of [3H]MK-801, [3H]muscimol and [3H]flunitrazepam binding in rat brain by the prolonged ventricular infusion of transformed ginsenosides. Neurochem Res 2004; 29:2257-66.
84. Lee SC, Moon YS, You KH. Effects of red ginseng saponins and nootropic drugs on impaired acquisition of ethanol-treated rats in passive avoidance performance. J Ethnopharmacol 2000; 69:1-8.
85. Guo M, Wang JH, Yang JY, Zhu D, Xu NJ, Pei G, Wu CF, Li X. Roles of ginsenosides on morphine-induced hyperactivity and rewarding effect in mice. Planta Med 2004; 70:688-90.
86. Kim HS, Hong YT, Jang CG. Effects of the ginsenosides Rg1 and Rb1 on morphine-induced hyperactivity and reinforcement in mice. J Pharm Pharmacol 1998d; 50:555-60.
87. Kim HS, Jang CG, Lee MK. Antinarcotic effects of the standardized ginseng extract G115 on morphine. Planta Med 1990; 56:158-63.
88. Takahashi M, Tokuyama S, Kaneto H. Anti-stress effect of ginseng on the inhibition of the development of morphine tolerance in stressed mice. Jpn J Pharmacol 1992; 59:399-404.
89. Kim HS, Kang JG, Oh KW. Inhibition by ginseng total saponin of the development of morphine reverse tolerance and dopamine receptor supersensitivity in mice. Gen Pharmacol 1995; 26:1071-6.
90. Kim HS, Oh KW, Park WK, Choi JW, Kim SC. Effects of ginseng total saponin on the development of acute and delayed typed tolerance to morphine. Kor J Ginseng Sci 1989; 13:239-41.
91. Schole J. Influence of Panax ginseng on the glutathione system of rats liver. Belastung, Ernährung und resistenz-Forschritte in der Tierphysiologie und Tiernahrung 1978; 9:35.
92. Kim HS, Oh KW, Park WK, Choi JW, Bae DE. Effects of *Panax ginseng* on the development of morphine induced tolerance and dependence (VI). Arch Pharm Res 1987a; 10:188-92.
93. Kim HS, Oh KW, Park WK, Yanmano S, Toki S. Effects of *Panax ginseng* on the development of morphine tolerance and dependence. Kor J Ginseng Sci 1987b; 11:182-90.

## THE INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS OF MEDICINAL PLANTS ON THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM RECEPTORS – BASIS OF POTENTIAL INTERACTION WITH SYNTHETIC DRUGS MECHANISMS. PART II

MARCIN OŻAROWSKI<sup>1,2</sup>, PRZEMYSŁAW ŁUKASZ MIKOŁAJCZAK<sup>1,3</sup>,  
TERESA BOBKIEWICZ-KOZŁOWSKA<sup>3</sup>, RADOSŁAW KUJAWSKI<sup>1</sup>,  
PRZEMYSŁAW M. MROZIKIEWICZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Medicinal Plants  
Libelta 27  
61-707 Poznań, Poland

<sup>2</sup>Chair and Department of Pharmaceutical Botany and Plant Biotechnology  
Karol Marcinkowski Medical University  
Św. Marii Magdaleny 14  
61-861 Poznań, Poland

<sup>3</sup>Chair and Department of Pharmacology  
Karol Marcinkowski Medical University  
Rokietnicka 5a  
60-806 Poznań, Poland

\*corresponding author: e-mail: mozarowski@iripz.pl

### Summary

*Valeriana officinalis* L. and *Panax ginseng* C.A. Meyer are ones of the most interesting medicinal plants affecting the central nervous system (CNS), especially in interactions with synthetic drugs on the CNS receptor level. In the part II of systematic review we summarized the most important molecular mechanisms of interactions of *V. officinalis* and *P. ginseng* extracts as well as bio-compounds of well documented plant origin. Experimental studies of valerenic acid demonstrated that this compound may interact with GABA<sub>A</sub> receptor (as a specific allosteric modulator) and showed activity as partial agonist of 5-HT<sub>5a</sub> receptors. Among other bio-compounds, the isovaltrate exhibited activity as inverse agonist of adenosine A<sub>1</sub> receptor, borneol – as a partial agonist and flumazenil – insensitive positive modulator of GABA<sub>A</sub> receptor, and 6-methylpigenin – as a positive modulator of GABA<sub>A</sub> receptor, lignan – as a partial agonist of adenosine receptors. Also, this bio-compound showed affinity to 5HT<sub>1A</sub>, GABA<sub>A</sub> receptor. Ginsenosides, the active components of *Panax ginseng*, exhibit diverse pharmacological effects on the central and peripheral nervous system. Systematic review has shown that ginsenoside Rg<sub>3</sub> and its metabolite Rh<sub>2</sub> as well as K compound (metabolite of ginsenoside R<sub>d</sub>) also inhibited the NMDA receptor, Rg<sub>3</sub> via interaction with the glycine-site of this receptor, and Rh<sub>2</sub> via interaction with polyamine-binding sites. Other studies demonstrated that ginsenoside Rg<sub>3</sub> and Rg<sub>2</sub> non-competitively inhibited the 5-HT<sub>3A</sub> receptor, and also showed that ginsenoside Rg<sub>2</sub> inhibits nicotinic ace-

tylcholine receptor (nACh)-mediated Na<sup>+</sup> influx and channel activity (as noncompetitive antagonist). Another ginsenoside Rc most potently enhanced the GABA-induced inward peak current, whereas ginsenosides Rh<sub>2</sub>, Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Re, Rf, Rg<sub>1</sub> and compound K exhibited affinity to GABA<sub>A</sub> receptor (inhibition of [<sup>3</sup>H]muscimol and increase of [<sup>3</sup>H]flunitrazepam bond to receptor). In summary, a lot of studies showed that metabolites of ginsenosides may be a more effective candidate for neurodegenerative diseases therapy via interactions with different receptors in the brain. In conclusion, it seems that more detailed neurochemical and pharmacological studies are needed in order to explain the mechanisms responsible for interaction between herbal and synthetic drugs in CNS.

**Key words:** *receptor, central nervous system, interaction, herbal drug, synthetic drug*